

Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. Kircher
des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg

**Stabilität von funktionellen
Konnektivitätsanalysen im Rahmen genetischer
Bildgebung**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten
Humanmedizin, dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

Johannes Bedenbender
aus Kiel

Marburg an der Lahn, März 2016

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg am:
02. November 2016

Gedruckt mit der Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan: Prof. Dr. Helmut Schäfer

Referent: Prof. Dr. Andreas Jansen

1. Korreferent: Prof. Dr. Nina Timmesfeld

2. Korreferent: Prof. Dr. Susanne Knake

Zusammenfassung

Funktionelle Magnetresonanztomographie kann mit genetischen Untersuchungen über Risikogene für Schizophrenie und bipolare Störung kombiniert werden. Ein oft verwendeter Ansatz der Datenanalyse ist funktionelle Konnektivität: Hierbei wird die zeitliche Korrelation der Aktivierung zwischen einer definierten Gehirnregion und allen anderen Bereichen des Gehirns untersucht. In der vorliegenden Arbeit wird gezeigt, wie stark sich frei wählbare Analyseparameter auf die Ergebnisse der Untersuchung von Risikogenen im Rahmen von funktioneller Konnektivität auswirken. Es werden drei exemplarische Parameter untersucht: (i) Die Auswahl der Punkte für die Korrelationsanalyse in der vordefinierten Gehirnregion, (ii) Methoden zur Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses und (iii) die Verwendung von zusätzlichen Kovariaten in der Gruppenanalyse. Die Ergebnisse zeigen, dass diese Parameter einen ähnlich starken Effekt auf die Ergebnisse der Konnektivitätsanalyse haben, wie die Modulation durch die untersuchten Risikogene. Manche Effekte der genetischen Varianz zeigen sich nur bei ganz bestimmten Parameterkonstellationen. Im Bereich der bildgebenden psychiatrischen Forschung, die sich mit Risikogenen beschäftigt, ist die Replikation von Forschungsergebnissen schwierig. Oft lassen sich initial viel versprechende Ergebnisse nicht replizieren, vor allem Aufgrund der sehr schwachen Effekte der genetischen Variationen auf die untersuchten Daten. Für eine bessere Vergleichbarkeit von Studien ist es daher wichtig, die verwendeten Analyseparameter bewusst zu wählen und zu publizieren wie robust die Ergebnisse bei Veränderungen der Parameter sind.

Abstract

Functional magnetic resonance imaging can be combined with genotype assessment to identify brain systems that mediate genetic vulnerability to mental disorders like schizophrenia and bipolar disorder. A data analysis approach that is widely applied is functional connectivity. In this approach, the temporal correlation between the signal from a pre-defined brain region and other brain regions is determined. In this work is shown how the choice of freely selectable data analysis parameters strongly influences the assessment of the genetic modulation of connectivity features. It is focused on three exemplary methodological parameters: (i) selection of points for

the correlation analysis in the predefined brain region, (ii) methods to improve the signal-to-noise ratio, and (iii) use of additional second level covariates. Our results show that even small variations in the implementation of a functional connectivity analysis can have an impact on the connectivity pattern that is as strong as the potential modulation by genetic allele variants. Some effects of genetic variation can only be found for one specific implementation of the connectivity analysis. A reoccurring difficulty in the field of psychiatric genetics is the non-replication of initially promising findings, partly caused by the small effects of single genes. For a meaningful comparison of imaging genetics studies however, it is therefore necessary to provide more details on specific methodological parameters and to give information how robust effects are across the choice of methodological parameters.

Inhaltsverzeichnis

1	Zielsetzung und Aufbau der Arbeit	1
2	Allgemeine Einführung und Grundlagen	3
2.1	Fragestellung	3
2.2	Krankheitsbilder	3
2.2.1	Schizophrenie	4
2.2.2	Bipolar affektive Störung	6
2.2.3	Genetische Grundlagen von bipolarer affektiver Störung und Schizophrenie	7
2.3	Magnetresonanztomographie	10
2.4	Funktionelle MRT	13
2.4.1	Limitierungen und Probleme der funktionellen MRT	15
2.4.2	Auswertung von funktionellen MRT-Daten	16
2.4.3	Gruppenuntersuchungen	18
2.4.4	Auswertungssoftware	19
2.4.5	Genetic Imaging	19
2.4.6	Konnektivität	20
3	Methoden	22
3.1	Probanden	22
3.2	Paradigma	23
3.3	MRT-Technik	24
3.4	Analyse-Technik	24
3.4.1	Einfache Aktivierungsanalyse	24
3.4.2	Seed-Voxel-Analyse	25

4 Ergebnisse und Diskussion	29
4.1 Variante 1: Effekte der Seed-Voxel-Auswahl	29
4.2 Variante 2: Effekte der veränderten Rausch-Kontrolle	30
4.3 Variante 3: Effekte der räumlichen Information als Kovariate	32
4.4 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen	33
4.5 Notwendige weitere Forschung	34
Abbildungen und Tabellen	35
Abkürzungsverzeichnis	36
Literatur	43
Akademische Lehrer	53

Kapitel 1

Zielsetzung und Aufbau der Arbeit

Seit langen sind die beiden Erkrankungen Schizophrenie und bipolare Störungen bekannt. Beschrieben wurden sie bereits vor der Etablierung des Fachgebietes der Psychiatrie (Fusar-Poli und Politi 2008). Auch nach Jahrzehnten der Forschung ist nach wie vor kein Pathomechanismus bekannt, der eine befriedigende Erklärung für die stark beeinträchtigenden Symptome liefert. Sogar die Diskussion, ob es eine fassbare somatische Ursache gibt, ist wenige Jahrzehnte alt (Gross und Huber 2008). Sehr gut bekannt hingegen sind messbare Einschränkungen kognitiver und auch anatomischer Teilsysteme des Gehirns. Ein Beispiel dafür stellt das Arbeitsgedächtnis dar (T. D. Cannon u. a. 2005). Eine weitere Erkenntnis der Erforschung dieser Krankheiten ist, dass es eine nicht zu vernachlässigende genetische Komponente bei ihrer Entstehung gibt. Ein verwendetes Maß hierfür ist die Heritabilität, welche für komplex vererbte Merkmale mit kontinuierlicher Ausprägung, den Anteil der durch Vererbung erklärbar ist, schätzt. Ab 45 % kann von einer hohen Heritabilität gesprochen werden, bei der Schizophrenie und der bipolaren Störung wurden Werte von bis zu 80 % ermittelt (Sullivan, Kendler und Neale 2003). In den letzten Jahren wurden unterschiedliche Varianten im menschlichen Genom entdeckt, welche mit einem erhöhten Risiko für eine Erkrankung an Schizophrenie oder bipolarer Störung einhergehen (Barnett und Smoller 2009; Craddock und Sklar 2013; Green u. a. 2010).

In der Zusammenschau dieser Erkenntnisse, stellt sich die Frage, ob die spezifischen funktionell-anatomischen und kognitiven Veränderungen, die typisch für die beiden psychischen Erkrankungen sind, auch schon bei Gesunden, die eine entsprechende genetische Risikovariante aufweisen, nachweisbar sind. Dieses Konzept des intermediären Phänotyps (auch Endophänotyp genannt, siehe auch Kapitel 3.5) wurde bereits eingehend untersucht. Die Ergebnisse sprechen in der Gesamtschau dafür, dass es einen solchen Effekt von Risikogenen auf subklinische Merkmalsausprägungen gibt (Fischer und Carpenter 2009; Gottesman und Gould 2003; Thaker 2008).

Das Konzept des intermediären Phänotyps wird auch auf mittels funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRT) erfassbare Prozesse angewendet (Meyer-Lindenberg 2010; Tost, Bilek und Meyer-Lindenberg 2012). Im Rahmen dieser Arbeit wird ein besonderes Augenmerk auf die sogenannte funktionelle Konnektivität gelegt. Auch hier wurden Effekte von Risikogenen beobachtet (Bigos u. a. 2010; Esslinger u. a. 2009; Paulus, Bedenbender u. a. 2014). Allerdings handelt es sich durchgehend um sehr kleine Effekte die erst nach einer komplexen Datenverarbeitung mit vielen möglichen Parameteroptionen zu finden sind. In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, ob exemplarisch ausgewählte Parameter im Rahmen der Datenauswertung ähnlich große Effekte auf die Untersuchungsergebnisse der Konnektivitätsanalysen haben, wie die genetischen Risikovarianten.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, festzustellen, wie stark die Effekte von beispielhaft ausgewählten Parameteroptionen auf die Ergebnisse von Untersuchungen über per fMRT bestimmten intermediären Phänotypen sind. Als erstes wird dazu ein kurzer Überblick über die für diese Arbeit relevanten Erkrankungen Schizophrenie und bipolare Störung gegeben, gefolgt von einer Einführung in die Grundlagen von MRT, fMRT und einer Übersicht über mögliche Auswertungsmethoden dieser Daten. In Kapitel 3 werden daraufhin die verwendeten Methoden der Arbeit beschrieben und im darauffolgenden Kapitel finden sich die Ergebnisse und die Diskussion sowie ein Ausblick auf offene Forschungsfragen.

Kapitel 2

Allgemeine Einführung und Grundlagen

2.1 Fragestellung

Die Fragestellung dieser Arbeit lautet: Wie stabil sind die Ergebnisse von funktionellen Konnektivitätsanalysen im Kontext von genetischer Bildgebung? Diese Frage wird durch kontrollierte methodische Veränderungen einer typischen Konnektivitätsanalyse exemplarisch beantwortet werden.

2.2 Krankheitsbilder

Für die vorliegende Arbeit wurden ausschließlich psychisch gesunde Probanden untersucht, die weder aktuell an einer psychiatrischen Erkrankung (nach ICD-10) litten, noch in ihrer Vorgeschichte eine solche Erkrankung aufwiesen. Alle Teilnehmer wurden für die bei ihnen vorliegenden Variante des single nucleotide polymorphism (SNP)¹ 1006737 im *CACNA1C*-Gen² getestet. Hierbei handelt es sich sowohl um einen Risikofaktor für bipolare affektive Störung (Ferreira et al., 2008)

¹Variation eines einzelnen Basenpaares an einer definierten Position des Genoms das bei mindestens 1 % einer untersuchten Population zu finden ist.

²Abkürzung für: calcium voltage-gated channel subunit alpha1 C, Teil eines membranständigen Kalzium-Kanals der im Rahmen der Membrandepolarisierung einen Influx ermöglicht.

als auch für Schizophrenie (Ivorra et al., 2014). Folgend wird eine kurze Übersicht dieser beiden Krankheitsbilder gegeben.

2.2.1 Schizophrenie

Bei der Schizophrenie handelt es sich um eine psychiatrische Erkrankung mit chronischer oder rezidivierender Psychose. Laut Weltgesundheitsorganisation zählt sie mit 0,6 % aller disease-adjusted life years (DALY) zu den wichtigsten zu Behinderung führenden Erkrankungen mit massivsten sozialen und ökonomischen Folgen für Betroffene (Murray et al., 2012). Die klinischen Symptome sind vielfältig und werden in mehrere klinisch relevante Bereiche unterteilt:

Positive Symptome: Hierzu zählen Halluzinationen, Wahnvorstellungen und Denkstörungen, diese werden als Exagerationen von physiologischen kognitiven Prozessen konzeptualisiert (Bartko, Strauss und Carpenter 1974; Strauss, Carpenter und Bartko 1974). Unter Halluzinationen versteht man das Wahrnehmen von sensorischen Reizen ohne externe Quelle. Zumeist bei 40 bis 80 % der Betroffenen handelt es sich hierbei um akustische Halluzinationen (Andreasen und Flaum 1991; Thomas u. a. 2007). In vielen Fällen hören die Patienten Stimmen, es können aber auch Musik, Maschinengeräusche und Anderes wahrgenommen werden. Die Quelle der akustischen Sensationen wird manchmal in der Person, manchmal aber auch an definierbaren Stellen im Raum verortet. Des Weiteren können optische und taktile Halluzinationen auftreten. Olfaktorische und gustatorische Halluzinationen werden nur in Einzelfällen beschrieben. Wahnvorstellungen kommen bei ca. 80 % der Betroffenen vor (Andreasen und Flaum 1991). Es wird grundsätzlich zwischen bizarren und nicht-bizarren Vorstellungen unterschieden. Alle Vorstellungen zeichnen sich dadurch aus, dass Patienten an der Richtigkeit ihrer Vorstellungen keine Zweifel haben. Es zeigen sich paranoide, größenwahnsinnige, erotomane und sehr selten auch nihilistische Wahninhalte (Andreasen und Flaum 1991). Wahnvorstellungen sind den inhaltlichen Denkstörungen zugeordnet, davon abzugrenzen sind formale Denkstörungen. Diese äußern sich zum Beispiel in Vorbeireden, umständlichem Denken, Neologismen und Zerfahrenheit. Es besteht kein Zusammenhang zwischen formalen Denkstörungen und der Schwere von Halluzinationen und Wahnvorstellungen (Andreasen und Flaum 1991).

Negative Symptome: Im Gegensatz zu den positiven werden den negativen Symptomen das Fehlen oder eine Diminuation von physiologischen kognitiven Prozessen zugrunde gelegt (Bartko, Strauss und Carpenter 1974; Strauss, Carpenter und Bartko 1974). Typische Beispiele für Negativsymptomatik sind Apathie, abgeflachter Effekt und verringerter Gefühlsausdruck. Negative Symptome treten unabhängig von positiven Symptomen auf, so dass sie sowohl isoliert als auch zusammen erscheinen können. Initial eher defizitäre Patienten haben eine deutlich schlechtere Verlaufsprognose (Kirkpatrick u. a. 2000).

Kognitive Leistungsminderung: Betroffen sind unterschiedliche kognitive Bereiche wie Aufmerksamkeit, Signalverarbeitung sowie unterschiedliche Instanzen des Gedächtnisses, beispielsweise das Arbeitsgedächtnis. Neuropsychologische Auffälligkeiten sind sehr typisch für die Erkrankung Schizophrenie. Derzeit wird davon ausgegangen, dass es keine unbeeinträchtigten Patienten mit dieser Diagnose gibt (Wilk u. a. 2005). Auch wenn die antipsychotische Medikation ebenfalls Leistungsminderungen in neuropsychologischen Testungen bedingen kann, zeigten sich im Vergleich mit nie medizierten Patienten ein ähnliches Muster an neuropsychologischen Einschränkungen (Torrey 2002).

Weitere: Im Rahmen einer Schizophrenie treten im Vergleich zu Gesunden häufiger komorbide affektive Störungen auf, bis zu 50 % der Patienten mit Schizophrenie entwickeln depressive Symptome. Bei nahezu ebenso vielen Patienten (47 %) findet sich in der Vorgeschichte oder im Krankheitsverlauf Substanzmissbrauch (Buckley u. a. 2009). Des Weiteren kann es zu diversen neurologischen Auffälligkeiten (Heinrichs und Buchanan 1988) oder auch katatonen Zuständen kommen (Fink und Taylor 2010).

Die Lebenszeitprävalenz der Schizophrenie liegt international betrachtet bei ca. 1 %. Die Inzidenz liegt bei 15.2 pro 100,000 Personen. Männer sind leicht häufiger im Verhältnis 1.4:1 betroffen (McGrath u. a. 2008). Zudem sind mehrere Risiko-Faktoren bekannt, darunter Migrationshintergrund, vor allem in der zweiten Generation (Bourque, E. v. d. Ven und Malla 2011), Leben im städtischen Umfeld (Krabbendam und Van Os 2005), Geburtsschwierigkeiten (Clarke, Harley und M. Cannon 2006), Geburtszeitpunkt im Übergang Winter-Frühjahr³ (Battle

³Als Ursache wurde schon eine vermehrte intrauterine Exposition mit saisonal auftretenden Viren vermutet, diese Hypothese konnte aber nicht sicher bestätigt werden.

u. a. 1999) und höheres Lebensalter des Vaters zum Zeitpunkt der Zeugung (Miller u. a. 2011).

Ähnlich wie bei der bipolaren Störung ist die Pathogenese der Schizophrenie unbekannt. Aktuell wird angenommen, dass es sich bei der Schizophrenie um ein Syndrom handelt, welchem unterschiedliche, schwer identifizierbare Krankheitsprozesse zu Grunde liegen. Die ursprünglich von Emil Kraepelin postulierte Dichotomie von Schizophrenie und bipolarer Störung, als zwei verschiedene psychotische Erkrankungen, ist in dieser Form heute eher unwahrscheinlich (Fischer und Carpenter 2009). Zweifelsohne kann bei beiden Erkrankungen von einer komplexen Interaktion zwischen genetischen Risikofaktoren und den, im vorherigen Absatz erwähnten, Umwelteinflüssen ausgegangen werden.

2.2.2 Bipolar affektive Störung

Die bipolare affektive Störung ist eine Erkrankung die sich durch abwechselnde Phasen der Hypomanie, Manie, Dysthymie und Major Depression auszeichnet. Sie ist charakterisiert durch „mindestens zwei Episoden, [...] in denen Stimmung und Aktivitätsniveau des Betroffenen deutlich gestört sind“ (ICD-10). Es wird zwischen den Subtypen Bipolar-I-Störung (mindestens eine manische Episode, Hypomanie und Major Depression fakultativ) und Bipolar-II-Störung (nur depressive und hypomane Episoden, keine Manie) unterschieden (Pini u. a. 2005). In den meisten Fällen zeigt sich initial eine Störung der Affektivität in depressiver Richtung (Baldessarini, Tondo und Visioli 2014). Nicht selten zeigen sich psychotische Symptome sowohl in manischen als auch in depressiven Phasen, definitionsgemäß aber nicht in hypomanen Episoden (Keck u. a. 2003). Am häufigsten zeigen sich psychotische Symptome in manischen Phasen, beispielsweise mit Größen- oder Verfolgungswahn, sexuellen oder religiösen Inhalten. Halluzinationen sind meistens akustischer Natur (Black und Nasrallah 1989).

Die Lebenszeitprävalenz der bipolaren Störung schwankt zwischen 1 und 3 % (Merikangas u. a. 2011). Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) stellt diese Erkrankung unter 291 untersuchten Erkrankungen auf Platz 46 bezüglich der Ursachen von Morbidität und Mortalität (Murray u. a. 2012). Werden Bipolar-I und Bipolar-II-Störung separat betrachtet, zeigen sich leichte Unterschiede in der

Lebenszeit-Prävalenz (BP-I 0.6 %, BP-II 0.4 %) (Merikangas et al., 2011). Männer und Frauen sind etwa gleich häufig betroffen (Seedat u. a. 2009), das mittlere Alter bei Erkrankungsbeginn liegt bei 18-20 Jahren (Merikangas u. a. 2011).

Die Pathogenese der bipolaren Störung ist ebenso unklar wie die der Schizophrenie. Für Verwandte ersten Grades ergibt sich ein Lebenszeitrisko ebenfalls zu erkranken von 5-10 %, bei eineiigen Zwillingen beträgt dieses Risiko sogar 40-70 % (Craddock und Sklar 2013). Diese Konkordanz von < 100 % weist darauf hin, dass es neben erblichen auch noch weitere Faktoren in der Entstehung der bipolaren Störung geben muss. Es gibt Hinweise, dass ein höheres Alter des Vaters zum Zeitpunkt der Zeugung zu einem erhöhten Erkrankungsrisiko führt (D’Onofrio u. a. 2014). Ebenso zeigen sich Zusammenhänge zwischen belastenden Lebensereignisse wie Missbrauch in der Kindheit (Gilman u. a. 2014; Sugaya u. a. 2012) und der Erkrankung an einer bipolaren Störung. Der Schweregrad und das Erkrankungsalter scheinen ebenfalls von Faktoren wie emotionalem und sexuellem Missbrauch beeinflusst zu werden (Etain u. a. 2013).

Die beiden vorgestellten Störungsbilder führen beide zu erheblichen Einschränkungen in Lebensqualität und Funktionsniveau, und verursachen wiederum erhebliche Belastungen unseres Gesundheitssystems. Die Erforschung von zugrundeliegenden pathologischen Prozessen des zentralen Nervensystems dieser Störungsbilder ist deshalb dringend indiziert und notwendig, um zukünftig die Prozesse der Entstehung dieser Störungen besser verstehen und in der Folge adäquater behandeln zu können.

2.2.3 Genetische Grundlagen von bipolarer affektiver Störung und Schizophrenie

Die einfachste Methode zur Überprüfung auf eine genetisch bedingte Komponente einer Erkrankung und deren Einfluss im Vergleich zu Umwelteinflüssen stellen Zwillingsstudien dar (Boomsma, Busjahn und Peltonen 2002). Monozygote Zwillinge weisen eine identische Sequenz der Basenpaare in ihrer Desoxyribonukleinsäure (DNS) auf. Bei einer reinen (klassischen) genetischen Ursache, müssten beide Zwillinge erkranken und die Konkordanzrate wäre dann 100 %. Sind auch prä- und postnatale Umwelteinflüsse an der Merkmals- oder Krankheitsausprägung

beteiligt, sinkt die Konkordanzrate entsprechend. Über den Vergleich mit dizygoten Zwillingen, deren Basenpaare nur zur Hälfte identisch sind, die aber trotzdem den gleichen intrauterinen Einflüssen ausgesetzt waren, kann eine geschätzte Quantifizierung von genetischen und umweltbedingten Einflüssen vorgenommen werden. Ein Beispiel dafür ist die von Douglas Scott Falconer (Falconer und F. C. Mackay 1996) entwickelte Formel für die Heritabilität h^2 :

$$h^2 = 2 \cdot (r_{MZ} - r_{DZ})$$

Bei r handelt es sich um die Konkordanzraten monozygoter (MZ) und dizygoter (DZ) Zwillinge. Diese hier verwendete Formel ist etwas vereinfacht und berücksichtigt nicht den immer auftretenden Konkordanzunterschied zwischen ungleich- und gleichgeschlechtlichen dizygoten Zwillingen. Von einer hohen Heritabilität ist bei $h^2 > 0.45$ auszugehen, von einer niedrigen Heritabilität bei $h^2 < 0.15$.

Für die Schizophrenie zeigen sich bei monozygoten Zwillingen Konkordanzraten von 40-50 %, für dizygote Zwillinge werden Raten von 10-15 % angegeben (T. Cannon u. a. 1998; Cardno u. a. 1999; Kringlen 2000). Aufgrund dieser Zahlen kann die Heritabilität der Schizophrenie mit der oben gezeigten Formel auf Werte von ungefähr 0.8 geschätzt werden. Dies entspricht den in der Literatur beschriebenen Werten (Sullivan, Kendler und Neale 2003). Für die bipolare Störung zeigt sich ein ähnliches Bild: Konkordanzraten bei monozygoten bewegen sich zwischen 44 % und 62 %, bei dizygoten nur zwischen 4.5 % bis 9.1 % (Smoller und Finn 2003). Die geschätzte Heritabilität entspricht hier ungefähr 0.6 bis 0.7. In der Literatur findet sich eine größere Varianz (Cardno u. a. 1999; Kendler 1993), grundsätzlich wird aber immer eine hohe Heritabilität gefunden.

Das Wissen über die grundsätzliche Vererbbarkeit von Merkmalen und Erkrankungen gibt wenig bis gar keinen Hinweis auf eine definierte genetische Ursache oder Variante. Zur Klärung dieser Ursachen, in einem klassischen genetischen Kontext, existieren verschiedene Ansätze. Mit diesen sollen Varianten in der Basensequenz gefunden werden, die im einfachsten Fall eine statistische Assoziation mit einem Merkmal zeigen. Im besten Fall kann sogar eine kausale Mutation für die Entstehung des Merkmals gefunden werden, wobei dies vor allem bei monogenetischen Merkmalen und Erkrankungen zu erwarten ist. Bei komplexen Erkrankungen

wie der Schizophrenie und der bipolaren Störung, die neben genetischen Faktoren auch von Umweltfaktoren abhängig sind, sind in der Regel solche kausalen Untersuchungsergebnisse nicht zu erwarten. Grund hierfür ist vor allem die Tatsache, dass es im Entstehungsprozess zu multiplen Gen-Umwelt-, aber wahrscheinlich auch Gen-Gen-Interaktionen kommt (Fu, O'Connor und Akey 2013; Kircher und Gauggel 2008; T. F. C. Mackay 2001).

Eine Methode, mit der seit etwa einem Jahrzehnt auch im Rahmen psychischer Erkrankungen nach Assoziationen im menschlichen Genom gesucht wird, sind sogenannte *genomweite Assoziationsstudien (GWAS)* (Hirschhorn und Daly 2005; Wang u. a. 2005). Bei solchen Studien werden möglichst viele Merkmalsträger / Erkrankte mit einer ebenfalls großen Gruppe von Gesunden verglichen. Anders als der Name der Untersuchung vermuten lässt, wird nicht das komplette Genom sequenziert, sondern nur nach vorher definierten, über das gesamte Genom verteilten, SNPs gesucht und der deren Häufigkeit in den beiden Gruppen verglichen. Die SNPs befinden sich meistens in nicht kodierenden Regionen (Dierks und Hubl 2008), was in der Regel mechanistisch-kausale Schlussfolgerungen ausschließt. Des Weiteren sind die Effekte von assoziierten Varianten auf quantitative Merkmale und komplexe Erkrankungen sehr klein. Einzelne genetische Varianten erklären oft nur einen sehr kleinen Teil der Heritabilität eines Merkmals, sei es die Körpergröße (Visscher 2008) oder eben eine psychische Erkrankung (Girard u. a. 2011). Es zeigt sich aber, dass eine Zusammenfassung von vielen Gen-Loci mit schwachen Effekten oft doch einen beträchtlichen Teil der Heritabilität erklären kann, zu 100 % aber nur bei Modellorganismen (Fu, O'Connor und Akey 2013).

In den letzten Jahren wurden sowohl für die Schizophrenie als auch für die bipolare Störung eine relativ große Anzahl an Gen-Loci gefunden, die mit einer oder auch beiden Erkrankungen assoziiert sind (Craddock und Sklar 2013; Moskvina u. a. 2009; Ripke u. a. 2011). Auf die gefundenen Loci treffen alle oben genannten Einschränkungen zu. Auch für den in dieser Arbeit untersuchten Locus im *CACNA1C*-Gen (rs1006737) zeigte sich eine Assoziation mit den beiden Erkrankungen (Craddock und Sklar 2013; Green u. a. 2010; Nyegaard u. a. 2010). Von besonderem Interesse für die vorliegende Arbeit ist dieser Locus vor allem, weil zu dem Effekt der Risikovariante auf die mittels fMRT untersuchte Konnektivität widersprüchliche Untersuchungen vorliegen: Bigos und Kollegen fanden 2010

eine stärkere Aktivierung im Rahmen des Arbeitsgedächtnisses im dorsolateralen Präfrontalkortex (DLPFC) (Bigos u. a. 2010). Paulus und Kollegen fanden dagegen eine verminderte Aktivierung in diesem Areal (Paulus, Bedenbender u. a. 2014). Dieser Umstand von völlig gegensätzlichen Ergebnissen deutet möglicherweise darauf hin, dass Effekte durch genetische Risikovarianten auf, mittels fMRT gemessene, Hirnaktivierungen eher klein sein müssen.

2.3 Magnetresonanztomographie

Die Magnetresonanztomographie (MRT) hat sich Anfang der 1970er Jahre aus der NMR-Spektroskopie⁴ entwickelt. In diesem Zusammenhang sind vor allem die beiden Forscher Paul C. Lauterbur und Peter Mansfield zu nennen, die für ihre Forschungen auf diesem Gebiet 2003 gemeinsam den Nobelpreis für Physiologie und Medizin erhielten (*Nobelprize.org* 2013).

Die Abkürzung MRT steht für Magnetresonanztomographie und bezeichnet ein, in der Medizin eingesetztes, bildgebendes Verfahren. Da es auf dem Prinzip der Kernspinresonanz basiert, ist eine Untersuchung mittels MRT im Gegensatz zu anderen bildgebenden Verfahren wie der Computertomographie, der Nukleotidszintigraphie oder auch einer konventionellen Röntgenuntersuchung nicht strahlenbelastend und nicht invasiv.

Im Prinzip ist die MRT-Untersuchung eine Untersuchung über Kernspins. Der Kernspin ist ein Phänomen von Atomkernen, die eine ungerade Nukleonenzahl aufweisen. Das bedeutet, dass nicht alle Elemente einer Kernspinresonanz-Untersuchung zugänglich sind, sondern nur etwa 2/3 aller in der Natur vorkommenden Elemente. Das im menschlichen Körper mit Abstand am häufigsten vorkommende Element, welches einen Kernspin aufweist, ist Wasserstoff (H). Vereinfacht lässt sich sagen, dass vor allem der Kernspin der H-Atome im Körper für die Gewinnung eines MRT-Signals genutzt wird.

Die übliche Analogie um sich den Kernspin vorzustellen ist die, dass der Atomkern mit Spin wie ein Kreisel um seine eigene Achse wirbelt. Tatsächlich handelt es sich bei diesem Phänomen um eine rein quantenmechanische Eigenschaft, die aus

⁴Kernspinresonanz-Spektroskopie: Eine spektroskopische Methode die auf den gleichen physikalischen Grundlagen wie die MRT basiert, allerdings keine Ortsinformationen kodiert.

der Binnenstruktur der Neutronen und Protonen des Atomkerns resultiert. Der Spin eines Kerns hat die Eigenschaft, dass er nie zum Erliegen kommt und immer gleich bleibt, allein seine Ausrichtung kann variieren. Vor allem diese Tatsache wird für die MRT genutzt.

Wie bereits erwähnt, weisen nicht alle Atomkerne einen Kernspin auf. Der Grund hierfür ist, dass jedes Kernteilchen einen eigenen Spin besitzt. Enthält ein Atomkern eine gerade Anzahl an Kernteilchen, richten deren Spins sich anti-parallel aus. Daraus resultiert eine aufgehobene Außenwirkung der Spins. Besitzt ein Kern allerdings eine ungerade Nukleonenzahl, können die Spins der Nukleonen sich nicht mehr vollständig aufheben, dann weist der Kern als Ganzes einen Spin auf. Beispiele für Elemente deren Atome einen Kernspin aufweisen sind Wasserstoff 1H oder Kohlenstoff ^{13}C . Beispielhafte Elemente ohne Kernspin sind Sauerstoff ^{16}O oder Kohlenstoff ^{12}C .

Die für die MRT maßgebliche Eigenschaft von Atomkernen mit Spin ist, ihr aus diesem Spin resultierender Magnetismus, der so genannte Spinmagnet. Als Analogie kann hier ein einfacher Stabmagnet dienen, in den der Atomkern sich durch den Spin (ähnlich wie bei einer rotierenden Ladung) verwandelt. Zur einfacheren Veranschaulichung wird dieses Magnetfeld oft als Vektor vom magnetischen Süd- zum magnetischen Nordpol des Atomkerns dargestellt.

Bei einer MRT-Untersuchung werden keine einzelnen Atomkerne und deren Spins untersucht. Vielmehr werden alle Spins einer bestimmten Volumeneinheit untersucht. Diese Volumeneinheit wird Voxel⁵ genannt. Im feldfreien Raum, sind die Spins der Atomkerne völlig zufällig orientiert. Wenn jedoch ein adäquates äußeres Magnetfeld anliegt, richten sich alle Spins des Voxels entlang dieses Magnetfeldes aus. Allerdings besteht hier ein eklatanter Unterschied zu denen als Analogie verwendeten Stabmagneten: Diese würden sich alle parallel zu den anliegenden Magnetfeldlinien ausrichten. Die Kernspins hingegen richten sich zum Teil ebenfalls parallel aber auch anti-parallel zu den Feldlinien aus. Das Verhältnis der „Auf-Spins“ (parallel ausgerichtet) zu den „Ab-Spins“ (anti-parallel ausgerichtet) beträgt nicht 1:1. Vielmehr gibt es einen leichten Überschuss der „Auf-Spins“, da diese Situation energetisch günstiger ist als die umgekehrte Situation⁶. Wie groß

⁵Von engl.: *volume* und *pixel*

⁶Bezogen auf das Ausgangsniveau liegen die „Auf-Spins“ auf einem niedrigeren und die „Ab-

dieser Überschuss an parallel ausgerichteten Spins ist, hängt von drei Faktoren ab: a) der Protonendichte in der untersuchten Volumeneinheit, b) von der Stärke des externen Magnetfeldes und c) der Temperatur der untersuchten Probe. In jedem Fall ist der Überschuss so klein, dass er sich am besten in „parts per million“ (ppm) angeben lässt. Beispielsweise beträgt bei Körpertemperatur und einem angelegten Magnetfeld der Stärke 1 Tesla der Überschuss 6 ppm. Das heißt, dass in dieser Situation unter 1 Millionen Spins nur 6 Überschuss-Spins vorhanden sind. Durch diesen Überschuss an gleich ausgerichteten Spins ergibt sich eine nach außen wirksame Magnetisierung der untersuchten Volumeneinheit.

Das bisher verwendete Bild vom Stabmagneten hat, neben der Ausrichtung im Magnetfeld, noch eine weitere Unzulänglichkeit: Anders als ein starrer, entlang der Feldlinien ausgerichteter Magnet weisen die Spins eine Rotation um die theoretische Achse, welche durch die Feldlinien vorgegeben ist, auf. Diese Bewegung wird Präzession genannt. Als Analogie hierfür kann ein Kinderkreisel dienen, der wenn er angestoßen wird nicht umfällt, sondern um seine vorherige Achse „kreiselt“. Die Frequenz mit der ein Spin präzediert, wird Larmorfrequenz ω genannt und ist vom Kerntyp und vor allem von der Feldstärke des angelegten Magnetfeldes anhängig. Es gilt: $\omega = B \cdot \gamma$ wobei γ ein konstanter Faktor (sog. gyromagnetisches Verhältnis) abhängig vom Kerntyp und B die Magnetfeldstärke in Tesla ist. Im Erdmagnetfeld beträgt die Larmorfrequenz der Protonen-Spins eines H-Atoms ca. 2000 Hz, in einem 1 T Magnetfeld dagegen schon 42 MHz.

Für die weitere Betrachtung ist nur noch die Präzession der Überschuss-Spins von Bedeutung. Wichtig ist, dass diese Spins alle mit der gleichen Frequenz und in der gleichen Ausrichtung präzedieren. Da per Definition die Richtung der magnetischen Feldlinien des externen Magnetfeldes die z-Achse des Raums der untersuchten Volumeneinheit darstellt, findet die „kreiselnde“ Bewegung der Spins ausschließlich in der xy-Ebene statt. Des Weiteren ist zu beachten, dass die Präzession aller Spins zwar mit der gleichen Frequenz stattfindet, deren Phasenlage aber völlig beliebig ist. Das bedeutet, dass sich ihre Magnetvektoren in der xy-Ebene gegenseitig aufheben. Einziges nach außen beobachtbares Signal bleibt die Längsmagnetisierung durch die Überschuss-Spins.

Das Grundprinzip der Signalerzeugung für die MRT ist es, die beschriebene Spins“ auf einem höheren Energie-Niveau.

Ruhelage der Überschuss-Spins aus dem Gleichgewicht zu bringen. Dies geschieht im Tomographen durch einen sogenannten Hochfrequenz-Impuls, auch HF-Puls abgekürzt. Dieser HF-Puls muss die gleiche Frequenz haben, mit der die zu untersuchenden Spins präzedieren. Er muss also der Larmorfrequenz ω entsprechen. Diese Tatsache folgt dem Phänomen der Resonanz: Ein schwingungsfähiges System kann mit seiner Eigenfrequenz durch Energiezufuhr zum Schwingen angeregt werden. Ein Beispiel dafür ist das Mitschwingen einer Saite eines Saiteninstruments, wenn ein gleichgestimmtes Instrument erklingt.

Der HF-Puls verursacht bei den Spins ein Weg-Kippen von der Z-Achse. Je höher die Energie des Pulses, desto größer wird der so genannte Kippwinkel. Vor allem Pulse, welche die Spins um 180° und solche die sie nur um 90° „flippen“ sind von Bedeutung. Ein 180° HF-Puls hat zur Folge, dass die Überschuss-Spins, die ja alle energetisch günstigere „Auf-Spins“ sind, zu energetisch ungünstigeren „Ab-Spins“ werden. Dieser Zustand ist wesentlich labiler, daher werden die Spins sich im Verlauf wieder auf das niedrigere Energieniveau und damit in den „Auf-Zustand“ begeben. Auch der 90° -Flip der Spins ist aus energetischer Sicht ungünstiger als ihre Lage vor dem HF-Puls. Daher werden sie auch in diesem Fall in ihren ursprünglichen Zustand zurückkehren. Allerdings tritt in dieser Situation noch ein anderes, sehr wichtiges, Phänomen auf: Die Spins sind durch den Puls nicht nur in die xy-Ebene gekippt worden, auch ihre Phasenlage hat sich durch den Puls näherungsweise synchronisiert. Das bedeutet, dass die Längsmagnetisierung in Richtung der z-Achse durch die Überschuss-Spins aufgehoben ist, und es jetzt eine nach außen beobachtbare, um die z-Achse rotierende Quermagnetisierung gibt.

Diese Quermagnetisierung wirkt wie ein rotierender Magnet. Wie bei einem Dynamo kann an einer, in diesem Magnetfeld eingebrachten Spule, eine elektrische Spannung gemessen werden. Und bei eben dieser Spannung, die in charakteristischer Weise mit der Zeit durch die Rückkehr der Spins in ihren Ursprungszustand abfällt, handelt es sich um das eigentliche gemessene MR-Signal.

2.4 Funktionelle MRT

Die funktionelle Magnetresonanztomographie, fMRT abgekürzt, ist eine Verwendungsmöglichkeit der MRT um bestimmte physiologische Vorgänge im Körper dar-

zustellen.

Basierend auf den Untersuchungen zur Struktur des Hämoglobins von Linus Pauling (Pauling und Coryell 1936) im Jahr 1936 stellten Thulborn und Kollegen 1982 (Thulborn u. a. 1982) fest, dass Blutproben abhängig von ihrem Oxygenierungsgrad unterschiedliche magnetische Eigenschaften aufweisen. Deoxygenierung führte zu einer Erhöhung der magnetischen Suszeptibilität, also der Magnetisierbarkeit durch ein externes Magnetfeld. Diese Eigenschaft, die BOLD-Effekt genannt wird, führt zu lokalen Veränderungen des MRT-Signals, die erstmals 1990 von Ogawa und Kollegen (Ogawa, Lee, Nayak u. a. 1990; Ogawa und Lee 1990; Ogawa, Lee, Kay u. a. 1990) auch in vivo gezeigt werden konnten.

Im Gehirn gibt es, unter anderem aufgrund lokaler neuronaler Aktivität, Areale mit unterschiedlicher Oxygenierung des Hämoglobins. Vor allem in aktiven Gehirnnarealen kommt es zu einem relativen Überangebot von Sauerstoff durch eine Hyperämisierung (Raichle und Mintun 2006). Dadurch kann das BOLD-Signal, vor allem über die Zeit gemessen, als indirekter Parameter der lokalen Hirnaktivität dienen. Zum ersten Mal wurde das 1991 mit Hilfe eines Paradigmas mit visuellen Stimuli nachgewiesen (Belliveau u. a. 1991). Durch gleichzeitige intrakortikale Ableitungen von neuronalen Signalen konnte dann 2001 der Zusammenhang zwischen Aktivierung und BOLD-Signal zweifelsfrei nachgewiesen werden (Logothetis u. a. 2001).

Diese hämodynamische Antwort auf neuronale Aktivität wird über die Neuronen selbst, aber zu großen Teilen auch über Astrozyten vermittelt (Raichle und Mintun 2006). Der zeitliche Verlauf wird üblicherweise mit einer sogenannten hämodynamischen Antwort-Funktion⁷ beschrieben (Friston, Fletcher u. a. 1998; Friston, Jezzard und Turner 1994; Goutte, Nielsen und Hansen 2000). In der Regel handelt es sich hier um eine mathematische Beschreibung des zu erwartenden Blutflusses in einem aktivierten Gehirnnareal. Neuere Ansätze verwenden auch nicht-parametrische Funktionen, die aus bestehenden Daten gewonnen werden (Avesani u. a. 2015). Eine prototypische Funktion ist in Abbildung 1 abgebildet. Man erkennt hier, dass es mit einer deutlichen Verzögerung nach dem Stimulus zum Maximum der Durchblutung kommt sowie anschließend zu einer Verminderung der Durchblutung im Vergleich zum Ausgangswert (sogenannter „undershoot“).

⁷haemodynamic response function, HRF

Im Vergleich zu einem sehr kurzen neuronalen Signal, handelt es sich bei der hämodynamischen Antwort um einen mehrere Sekunden andauernden Prozess. Bei schnell aufeinander folgenden Stimuli kommt es zu einer Verlängerung der hämodynamischen Antwort. Diese Tatsache führt dazu, dass in einem Experiment nicht mehr jeder Stimulus einzeln modelliert werden muss. Der experimentelle Ablauf kann in Blöcken beschrieben werden, in denen dem Probanden jeweils ein identischer Stimulus wiederholt dargeboten wird. Diese Blöcke können am besten mit einer Boxcar-Funktion für jede Bedingung einzeln dargestellt werden, die mit der Hemodynamic response function (HRF) gefaltet wird (Friston, Jezzard und Turner 1994). Damit werden die zeitlichen Begrenzungen der einzelnen experimentellen Bedingungen sowie das erwartete BOLD-Signal dargestellt (siehe hierzu auch Abschnitt 2.4.2 auf Seite 16).

2.4.1 Limitierungen und Probleme der funktionellen MRT

Das Verfahren der funktionellen MRT weist einige Defizite auf, die bei der Planung und der Auswertung von Experimenten berücksichtigt werden müssen. Das erste ist, dass trotz des bestätigten Zusammenhangs (Logothetis u. a. 2001) nicht die neuronale Aktivität selber gemessen, aber trotzdem immer aufgrund des BOLD-Signals auf diese zurückgeschlossen wird. Deutlich wird dieser angenommene Zusammenhang auch in der Sprache. Wenn durch die oben beschriebenen Auswertmechanismen bestimmte Hirnareale hervorgehoben werden, ist immer von gefundenen „Aktivierungen“ die Rede. Ein weiteres Problem dieser Methode ist das schlechte Signal-zu-Rausch-Verhältnis. In extremen Fällen können beispielsweise auch nach der Korrektur von Bewegungsartefakten 90 % der Varianz auf die Kopfbewegung des Probanden zurück geführt werden (Friston, Williams u. a. 1996). Lediglich wenige Prozent der Signalveränderung über die Zeit sind tatsächlich auf eine Veränderung des BOLD-Signals zurück zu führen. Deshalb bedarf es guter Mechanismen, die das Rauschen in den Daten kontrollieren. Die fMRT ist weniger für Versuche mit wenigen oder gar nur einzelnen Probanden geeignet, da mit größerer Probandenzahl das gesuchte Signal besser extrahiert werden kann⁸.

⁸Allerdings kommt es hier auch auf die Fragestellung und vor allem auf die untersuchte Gehirnregion an.

Aufgrund der zeitlichen Abstände von ca. 1000-3000 ms zwischen zwei Aufnahmen weist die fMRT eine schlechtere zeitliche Auflösung als zum Beispiel das Enzephaloelektrogramm (EEG) auf. Durch Mechanismen wie *slice timing* kann dem zwar in Maßen entgegengewirkt werden, wichtiger ist aber eine gute Planung des Experiments, die diesen Umstand berücksichtigt. Nichts desto trotz ist die fMRT, nicht zuletzt auch weil sie weder invasiv ist noch mit Strahlenbelastung einhergeht, bei richtiger Anwendung und Interpretation ein mächtiges Verfahren zur Untersuchung kognitiver Prozesse.

2.4.2 Auswertung von funktionellen MRT-Daten

Die Daten die durch eine fMRT-Untersuchung generiert werden, liegen in dreidimensionalen Grauwertbildern vor. Die Voxelgröße, also die kleinste untersuchbare Einheit, beträgt in der Regel 4-9 mm³.

Zur Auswertung müssen zwei Schritte durchlaufen werden: a) Das sogenannte *preprocessing*. Die einzelnen Aufnahmen des Kopfes werden so verzerrt, dass sie mit der ersten Aufnahme der Serie möglichst deckungsgleich sind. Dieser Schritt wird *realignment* genannt. Falls mehrere Probanden miteinander verglichen werden, müssen die Aufnahmen in einem weiteren Schritt, der Normalisierung, so verändert werden, dass sie mit einem Standardgehirn deckungsgleich sind. Optionale Parameter der Vorverarbeitung sind: *slice timing*, bei dem die Bildinformation einer zeitlichen Interpolation unterworfen wird, um den Aktivierungszustand zu einem definierten Zeitpunkt der Kopfaufnahme darzustellen⁹; *smoothing*, bei dem eine Weichzeichnung der Grauwerte erfolgt.

Der zweite Schritt ist b) Die Auswertung des BOLD-Signals mittels statistischer Methoden. Hierbei wird für jeden Voxel, der nach der Vorverarbeitung einen eindeutigen Ort identifiziert, der Zeitverlauf des BOLD-Signals verwendet, um dessen Zusammenhang mit dem experimentellen Ablauf, welcher mittels eines allgemeinen linearen Modells beschrieben wird, zu überprüfen. Ein allgemeines oder auch generalisiertes Modell (GLM) der Auswertung ist die Verallgemeinerung ei-

⁹Die Aufnahme des Kopfes erfolgt in Schichten, oft von oben nach unten oder umgekehrt. Allerdings sind auch andere Reihenfolgen möglich, beispielsweise erst die geraden und dann die ungeraden Schichten. Als definierter Zeitpunkt für das Slice Timing wird eine bestimmte Schicht gewählt, in der Regel die mittlere.

nes Regressionsmodells in der Regressionsanalyse, bei welcher der Fehlerterm andere Verteilungen als eine Normalverteilung aufweisen kann (Friston, Holmes u. a. 1995). Die grundsätzliche Form des Modells ist:

$$\vec{\gamma} = X\vec{\beta} + \vec{\varepsilon}$$

Wobei die abhängige Variable

$$\vec{\gamma} = \begin{pmatrix} \gamma_1 \\ \vdots \\ \gamma_n \end{pmatrix}$$

dem Zeitverlauf des zu untersuchenden Voxels, also den gemessenen Daten entspricht. Je nach Fragestellung können die unterschiedlichsten Vektoren als Regressoren in das Modell in der Form

$$X = \begin{pmatrix} X_{1,1} & \dots & X_{1,k} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ X_{n,1} & \dots & X_{n,k} \end{pmatrix}$$

integriert werden. Auf der Ebene der einfachen Aktivierungsanalyse sind das in der Regel die für den zeitlichen Verlauf codierten, und mit der HRF gefalteten, experimentellen Stimuli. Im Falle einer Seed-Voxel-Analyse kann das der Zeitverlauf des BOLD-Signals einer bestimmten Hirnregion sein. Des Weiteren können und sollten Regressoren eingefügt werden, welche die nicht durch die Stimuli verursachte Varianz aufklären können. Beispiele hierfür sind die im Schritt des Realignment gewonnen Bewegungsparameter für die Aktivierungsanalyse oder ein über größere Bereiche des Gehirns gemitteltes Signal zur Kontrolle des Signalrauschens (Noise) bei der Suche nach funktioneller Konnektivität (siehe auch Abschnitt 3.4.2 auf Seite 25). Der Vektor

$$\vec{\beta} = \begin{pmatrix} \beta_1 & \dots & \beta_n \end{pmatrix}$$

beschreibt die in der Regressionsanalyse geschätzten Regressionskoeffizienten, welche den relativen Zusammenhang des Regressors mit der abhängigen Variable be-

schreiben. Zum Schluss kann mit Hilfe einer Kontrastierung noch eine Gewichtung der Regressionskoeffizienten vorgenommen werden, um beispielsweise die unterschiedliche Aktivierung zwischen zwei Bedingungen zu vergleichen (Friston, Holmes u. a. 1995). Diese Methode ist gut verallgemeinerbar und geeignet, die unterschiedlichsten Fragestellungen zu beantworten, wenn sich diese in Form eines allgemeinen linearen Modells abbilden lassen (Friston, Ashburner u. a. 2007).

Eine solche Analyse wird für jeden einzelnen Voxel wiederholt ausgeführt. Übliche Auflösungen in fMRT-Messungen befinden sich in der Größenordnung von ca. $90 \times 100 \times 90$ Messpunkten, was einer Anzahl von 8.1×10^5 Voxeln entspricht. Legt man ein üblicherweise in statistischen Tests verwendetes Signifikanzniveau von $\alpha = 0.05$ zugrunde ist mit ca. 40,000 falsch positiven Messpunkten zu rechnen. Dies verdeutlicht die Notwendigkeit von Kontrollmechanismen. Auf der Ebene statistischer Tests gibt es mehrere Verfahren wie beispielsweise die Bonferroni-Korrektur und Family-wise-Error (Lieberman und Cunningham 2009) oder die False Discovery Rate (Genovese, Lazar und Nichols 2002), die zu einem an die Häufigkeit des Testens angepassten Signifikanzniveau führen. Des Weiteren ist es sinnvoll, bei der Auswertung zu berücksichtigen, dass es immer eine räumliche Ausbreitung des gemessenen BOLD-Signal Effekts gibt. Mit der unten aufgeführten Auswertungssoftware ist es möglich nur sogenannte „Blobs“ (zusammenhängende Areale ähnlicher Aktivierung) mit einer Mindestanzahl an Voxel herauszufiltern. Die zugrundeliegende Idee dabei ist, dass einzeln liegende Voxel mit hohen statistischen Testwerten mit hoher Wahrscheinlichkeit Artefakte und falsch positiv sind. Je nach Fragestellung und Hypothese ist es auch möglich, nur bestimmte Bereiche des Gehirns in den Untersuchungen zu berücksichtigen¹⁰, wodurch eine ausgeprägte Reduktion der Testhäufigkeit erreicht werden kann. In der Regel ist eine Verwendung von mehreren oder sogar allen diesen Verfahren sinnvoll.

2.4.3 Gruppenuntersuchungen

Die auf der Probanden-Ebene gewonnenen und gewichteten Beta-Maps bilden die Grundlage für Gruppenuntersuchungen. Das Grundprinzip besteht auch hier darin, für jeden einzelnen Voxel einen statistischen Test zur Hypothesenüberprüfung

¹⁰Sog. Region of Interest Analyse (ROI-Analyse)

durchzuführen. Es besteht also ebenfalls die Problematik des multiplen Testens, welcher mit entsprechenden Gegenmaßnahmen begegnet werden muss.

Der am häufigsten verwendete Test auf dieser Ebene ist ein One-Sample-T-Test, um über alle Probanden signifikante Voxel zu identifizieren. Bei den meisten Fragestellungen ist erst auf dieser Ebene eine Aussage über aktivierte Areale möglich, da es eine starke Intersubjekt-Varianz gibt. Ursache dafür ist vor allem, dass selbst nach korrekt ausgeführtem Realignment immer noch bis zu 90 % der Varianz des Signals eines einzelnen Probanden auf Kopfbewegungen und physikalische Artefakte zurückzuführen sind (Friston, Williams u. a. 1996). Prinzipiell lassen sich, je nach Fragestellung, alle varianzanalytischen Verfahren anwenden. Sie werden durch die definierte Position eines Voxel zusätzlich räumlich codiert. In der Regel erfolgt die Dateneingabe ähnlich wie bei der Einzelanalyse in Form einer Design-Matrix.

2.4.4 Auswertungssoftware

Es existieren mehrere Software-Lösungen um funktionelle MRT-Daten auszuwerten: Zu den bekanntesten zählen die freien Tools *FreeSurfer* (Dale, Fischl und Sereno 1999) und *FMRIB Software Library* (Jenkinson u. a. 2012) sowie das kommerzielle *BrainVoyager* (Goebel, Esposito und Formisano 2006). Für die vorliegende Arbeit wurde das unter einer freien Lizenz stehende *SPM* in der Version 5 verwendet (<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>). Hierbei handelt es sich um eine leicht erweiterbare Toolbox für die MATLAB-Umgebung.

2.4.5 Genetic Imaging

Das grundsätzliche Konzept von Genotyp und daraus resultierenden Phänotyp ist mittlerweile über 100 Jahre alt (Johannsen 1909). Bei wenigen, monogenetisch vererbten Erkrankungen besteht ein direkter Zusammenhang zwischen dem Genotyp und der Ausprägung des Merkmals. Beispiele sind die zystische Fibrose (Harris 1992), Sichelzellanämie (Ingram 1957) oder polyzystischen Nieren (Ward u. a. 1994). Die weitaus meisten Erkrankungen weisen aber, sofern eine erbliche Komponente überhaupt vorliegt, eine komplexe Vererbung auf. Weiteren Einfluss, neben der genetischen Information, haben Umwelteinflüsse und epigenetische Fak-

toren (für bipolare Störung und Schizophrenie wurde dies bereits in Kapitel 2.2 auf Seite 3 ausgeführt). Auch auf dem Gebiet der psychiatrischen Erkrankungen wurde bereits sehr viel zu den genetischen Grundlagen einzelner Störungen geforscht, allerdings mit relativ wenig Erfolg. Neben der hohen Komplexität der untersuchten Krankheiten sowie der Komplexität des Gehirns, liegt eine Ursache für die wenig befriedigende Forschungslage wahrscheinlich auch in der Definition von psychischen Krankheiten selbst. Die Kategorisierung menschlichen Verhaltens steht in Verdacht heterogene Krankheitsprozesse zu beschreiben (Andreasen 2000; Chakravarti und Little 2003). Im Gegensatz zu Erkrankungen anderer Organsysteme kommt bei Erkrankungen des Gehirns die Ausprägung des Verhaltens komplizierend hinzu. Die Symptome können sich vor allem auf Interaktionen mit anderen Individuen beziehen und auch durch diese modifiziert werden (Kandel 1998). Diese Tatsachen führen zu der begründeten Überlegung, dass zur Untersuchung des genetischen Einflusses auf psychische Erkrankungen eine reduzierte Messgröße verwendet werden sollte. Idealerweise sollte, so der Wunsch in den 1960er und 70er Jahren, ein sogenannter Endophänotyp gefunden werden, der einem „biochemischen Test oder einer mikroskopischen Untersuchung“ zugänglich wäre (Shields und Gottesman 1977). Letztendlich kann ein Endophänotyp aber auch „neurophysiologischer, biochemischer, endokrinologischer, neuroanatomischer, kognitiver oder neuropsychologischer“ Natur sein (Gottesman und Gould 2003). Das bedeutet, dass auch mittels fMRT erfasst neurobiologische Prozesse als Endophänotypen für psychiatrische Erkrankungen geeignet sein können (Meyer-Lindenberg und Weinberger 2006).

2.4.6 Konnektivität

Konnektivität des Gehirns beschreibt die Verbindungen, die zwischen räumlich getrennten Gehirnarealen bestehen. Diese Beschreibung kann mit unterschiedlichen Techniken auf ganz verschiedenen Ebenen erfolgen.

Die erste Methode, *diffusion tensor imaging (DTI)*, stellt den tatsächlichen Verlauf von Nervenfasern in der weißen Substanz dar, indem es eine Quantifizierung der Diffusion von Wassermolekülen erlaubt (Basser, Mattiello und LeBihan 1994). Diese Methode ist kein dynamisches Verfahren, es wird also im Gegensatz

zur fMRT keinerlei Paradigma benötigt. Die Untersuchungsergebnisse korrespondieren gut mit strukturellen Besonderheiten, auch in der neuropsychiatrischen Forschung wird diese Methode regelmäßig angewandt (Chanraud u. a. 2010; Hagmann u. a. 2010; Shizukuishi, Abe und Aoki 2013). DTI wird in der Regel als Messung der strukturellen Konnektivität bezeichnet.

Mittels fMRT kann neben der in dieser Arbeit verwendeten funktionellen Konnektivität auch mit unterschiedlichen Methoden eine kausale oder auch effektive Konnektivität untersucht werden. Ausgangsbasis sind hier ebenfalls einfache funktionelle MRT Aufnahmen. Der erste Ansatz auf der Suche nach Kausalität waren in den 90er Jahren sogenannte *psychophysiologische Interaktionen (PPI)*, hierbei wird der Einfluss der Interaktion zwischen mehreren Gehirnarealen und externen, experimentellen Faktoren in Relation gesetzt zu dem isolierten Einfluss von externen Faktoren auf Gehirnareale (Friston, Jezzard und Turner 1994; Friston, Buechel u. a. 1997). Zur gleichen Zeit wurden auch Versuche mit *Strukturgleichungsmodellen* unternommen. Diese nicht neurowissenschaftlich-spezifische Methode zum Schätzen und Testen korrelativer Zusammenhänge wurde vorher schon erfolgreich bei PET-Untersuchungen angewendet (Büchel und Friston 1997; Bullmore u. a. 2000). Eine weitere Methode zur Untersuchung von effektiver Konnektivität ist *dynamic causal modelling (DCM)*. Hierbei werden unterschiedliche Modelle von möglicher Konnektivität zwischen Gehirnarealen anhand der gemessenen fMRT-Daten bewertet, es können auch externe Stimuli berücksichtigt werden (Friston 2003; Stephan und Roebroeck 2012).

Unter funktioneller Konnektivität versteht man im Rahmen der Gehirnbildgebung vor allem die beiden Verfahren *Independent component analysis (ICA)* und *Cross-Correlation Analysis*. Bei letzterem handelt es sich um die in der vorliegenden Arbeit verwendete Seed-Voxel-Analyse. Die ICA ist, wie Strukturgleichungsmodelle, kein spezifisch neurowissenschaftliches Verfahren (Beckmann u. a. 2005; McKeown u. a. 1998; V. G. v. d. Ven u. a. 2004). Da es sich um ein Verfahren ohne Vorannahmen handelt ist es besonders gut geeignet um die Aktivität des Gehirns in Ruhe zu untersuchen. In diesem Feld ist ICA der Seed-Voxel-Analyse überlegen (Ma u. a. 2007).

Kapitel 3

Methoden

Für die vorliegende Arbeit wurde auf bereits zuvor erhobene Bildgebungsdaten zurückgegriffen. Diese wurden bereits in mehreren Studien zum Thema Genetic Imaging verwendet (beispielsweise Kircher, Krug u. a. 2009; Krug u. a. 2010; Thimm u. a. 2010). Da der Datensatz sich schon mehrfach zum Untersuchen von Fragestellungen rund um Genetic Imaging geeignet zeigte, erschien er für die vorliegende Arbeit sinnvoll. Die Auswahl der Stichprobe, des Paradigmas und die MRT Technik konnten im Rahmen dieser Arbeit also nicht verändert werden.

3.1 Probanden

Bei den hier untersuchten Datensätzen handelt es sich um eine Subpopulation einer größeren Untersuchung über Schizophrenie und bipolare Störungen an der Klinik für Psychiatrie der Universitätsklinik Aachen (Krug u. a. 2010). Insgesamt wurden die Daten von 94 Individuen für die vorliegende Untersuchung verwendet. Einschlusskriterien waren Alter (18-55 Jahre), Rechtshändigkeit, überprüft durch das Edinburgh-Inventory (Oldfield 1971), keine psychiatrischen Erkrankungen nach ICD-10 und insbesondere keine Schizophrenie oder bipolare Störung in der Familiengeschichte oder bei Verwandten ersten Grades. Die Probanden wurden mittels Anzeigen in einer lokalen Tageszeitung und Aushängen in der Universität Aachen rekrutiert. Für die Teilnahme am diesem Experiment wurde eine Aufwandsentschädigung gezahlt. Den Probanden wurde Blut entnommen zur

Typisierung von unterschiedlichen Risikogenen für psychiatrische Erkrankungen, unter anderem den SNP rs1006737 im *CACNA1C*-Gen. In diesem Locus findet sich entweder die Base Guanin oder Adenin, wobei es sich bei Adenin um die Risikovariante handelt (Green u. a. 2010). Eingeteilt wurden die Probanden in drei Gruppen: Homozygot Guanin (G/G), homozygot Adenin (A/A) oder heterozygot (G/A). Einige Charakteristiken der Population sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

3.2 Paradigma

In dieser Untersuchung wurde mit dem n-back-Task mit Buchstaben ein robustes und schon oft verwendetes Arbeitsgedächtnis-Paradigma verwendet (beispielsweise Jansen u. a. 2009; Paulus, Krach u. a. 2013). Dabei wurden den Probanden während der MRT-Messung weiße, lateinische Buchstaben auf schwarzen Grund präsentiert. Es gab drei unterschiedliche Bedingungen, die jeweils ein anderes Verhalten vom Probanden verlangten. 1) *Letter fixation*: Als High-Level Baseline gedacht, mussten die Probanden in dieser Bedingung die ihnen auf dem Bildschirm präsentierten Buchstaben nur mit den Augen fixieren. 2) *Selective attention*: Hierbei handelt es sich um eine 0-back-Aufgabe, die Probanden mussten mit einem Tastendruck reagieren sobald der Buchstabe „X“ zu sehen war. 3) *Working memory*: Die Aufgabe während dieses Blockes bestand darin, mit einem Tastendruck zu reagieren, wenn der aktuell angezeigte Buchstabe genau zwei Buchstaben zuvor schon einmal angezeigt wurde. Es handelt sich also um eine 2-back-Aufgabe, die Probanden mussten mindestens drei Items zugleich im Arbeitsgedächtnis behalten. Diese Bedingungen wechselten sich ab, ein Wechsel der Bedingungen wurde jeweils vor dem Block mit einer kurzen Informationsnachricht angekündigt. Insgesamt wurden den Probanden acht Baseline-Blöcke im Wechsel mit vier 0-back-Blöcken sowie vier 2-back-Blöcken präsentiert. Einen schematischen Ablauf über das Paradigma gibt Abbildung 2. Die Präsentation des Paradigmas erfolgte mithilfe der Software Presentation der Firma Neurobs (www.neurobs.com), die eine zu den Pulsen des MRT synchrone Darstellung der Stimuli gewährleistete.

3.3 MRT-Technik

Die Probanden wurden alle im selben Scanner (TIM-Trio MR von Siemens, 3 Tesla) untersucht, dieser befand sich im Forschungszentrum Jülich. Es wurde eine T2*-gewichtete EPI-Sequenz, sensitiv für den BOLD-Kontrast, verwendet. Weitere Parameter der Untersuchung waren: 64x64 Matrix, Field of View 200 mm, in plane resolution 3.31 mm, 36 Schichten, Schichtdicke 3 mm, TR 2.25 s, TE 30 ms, flip angle 90°. Die Messung umfasste das komplette Gehirn der Probanden. Die Schichten wurden bei jedem Probanden parallel zur fiktiven Verbindungslinie der anterioren und der posterioren Kommissur¹ ausgerichtet. Insgesamt wurden von jedem Probanden 217 Scans aufgenommen, wobei die ersten drei zur Vermeidung von T1-Sättigungseffekten verworfen wurden. Bei einer TR von 2.25 s und 217 Bildern ergibt sich eine Gesamtlänge der Scanzeit von 488 Sekunden.

3.4 Analyse-Technik

Die Auswertung der fMRT-Daten wurde, wie bei funktionellen Konnektivitätsanalysen üblich, in zwei Schritten vorgenommen.

3.4.1 Einfache Aktivierungsanalyse

Für diesen Schritt wurden die Standard-Routinen und Templates der Software SPM5 verwendet. Die zugrundeliegende MATLAB-Version war R2009.

Wie bereits in Kapitel 2.4.2 auf Seite 16 beschrieben, wurden die Daten jedes Probanden in der aufgeführten Reihenfolge bearbeitet: 1) slice timing, wobei die mittlere Schicht (18 von 36) als Referenz-Schicht genommen wurde, 2) realignment aller Bilder relativ zum ersten Scan jeder Messung, 3) normalisierung auf das Standard-EPI-Template von SPM5 (mit einer resultierenden Voxelgröße von 2x2x2 mm), 4) smoothing (8 mm Kernel).

Der Prozess des Realignments erzeugt Daten, mit denen eine quantitative Aussage zu den Kopfbewegungen des Probanden im Raum sowie zu Drehungen des

¹Sogenannte AC-PC-Linie, es handelt sich um eine in der Radiologie gebräuchliche Konvention in der Schnittbildgebung des Gehirns um vergleichbare Schnittebenen zu erzeugen.

Kopfes um drei Achsen möglich sind. Es wurde eine manuelle Kontrolle dieser Daten durchgeführt, als Ausschlusskriterium wurden vorher Translation in einer der Richtungen des Raumes > 3 mm sowie Rotation um eine von drei senkrecht aufeinander stehenden Achsen $> 1^\circ$ festgesetzt. Alle Probanden befanden sich unterhalb der festgesetzten Grenzen. Es zeigten sich keine Mittelwert-, Maximums-, Standardabweichungs-Unterschiede bezogen auf den Genotyp (alle $p > 0.05$).

Die durch das Experiment hervorgerufene Aktivierung wurde in zwei Schritten mittels der in Kapitel 2.4.2 vorgestellten Methoden untersucht. Im ersten Schritt wurde für jeden einzelnen Probanden ein Modell mit folgenden Regressoren aufgestellt. Die ersten drei modellieren den Ablauf des Experiments für die Bedingungen 0-Back, 2-Back sowie die zwischen den Bedingungen gezeigten Instruktionen. Um eine Überspezifizierung zu vermeiden, wurde die Letter-Fixation-Bedingung nicht separat modelliert. Des Weiteren wurden die sechs Bewegungsparameter als zusätzliche Regressoren hinzugefügt. Eine beispielhafte Design-Matrix ist in Abbildung 3 gezeigt. In einem weiteren Schritt wurde mittels gewichteten β -Maps, welche den Unterschied der Bedingungen 2-Back $>$ 0-Back kodieren, die durch die working-memory Bedingung signifikant aktivierten Areale untersucht. Wie in vorherigen Untersuchungen mit diesem und anderen Datensätzen gezeigt (Esslinger u. a. 2009; Jansen u. a. 2009; Kircher, Krug u. a. 2009; Krug u. a. 2010; Thimm u. a. 2010), fanden sich Aktivierungen in zu erwartenden Bereichen des Gehirns in einem weitläufigen, symmetrischen Netzwerk: Im dorsolateralen Präfrontalkortex, im inferioren Parietallappen, und beiden Kleinhirnhemisphären. Supprimierte Aktivität zeigten sich dagegen ebenfalls symmetrisch im medialen Frontal-, medialen Temporallappen sowie parahippocampal. Im Vergleich mit den anderen Arbeiten lässt sich gut erkennen, dass es durch das gewählte Paradigma zu den gewünschten und erwarteten zerebralen Prozessen kam. Prinzipiell kann an dieser Stelle auch schon eine Gruppenanalyse mit unterschiedlichen Fragestellungen, z.B. nach dem Effekt von bestimmten biologischen und testpsychologischen Parametern, erfolgen.

3.4.2 Seed-Voxel-Analyse

Der nächste Schritt, die eigentliche Konnektivitäts-Analyse mittels Seed-Voxel Ansatz (siehe auch Abschnitt 2.4.6 auf Seite 20), ist die zentrale Untersuchungsmetho-

de dieser Arbeit. Ausgehend von einer Referenz-Analyse wurden drei weitere Konnektivitäts-Analysen jeweils in einem Parameter oder Ansatz variiert, um den Effekt dieser Variation zu untersuchen. Es wurden folgende Variationen durchgeführt: 1.) Veränderte Auswahl-Methode der Seed-Voxel, 2.) veränderte Implementation von Noise-Regressoren und 3.) Koordinaten der Seed-Voxel als zusätzliche Kovariate.

Beschreibung der Referenz-Analyse

Als Region für die Extrahierung der Zeitreihen wurde der rechte dorsolaterale präfrontale Kortex (DLPFC) gewählt. Definiert wurde dieses Areal als Brodman Areal (BA) 9 und den lateralen teilen von BA 46. Zur Erstellung der Maske wurde der Wake Forest University PickAtlas verwendet (www.fmri.wfubmc.edu). Der genaue Punkt wurde für jeden Probanden individuell festgelegt. Auf diese Weise wurden interindividuelle Unterschiede zwischen den Aktivierungsmustern der einzelnen Probanden berücksichtigt. Vom Gruppen-Maximum im DLPFC bei MNI-Koordinate (52,30,30) wurde für den Kontrast 2-Back > 0-Back bei $p < 0.01$ (unkorrigiert) und einer Mindestgröße der Cluster von 20 Voxeln mittels der SPM-eigenen MATLAB-Funktion *next-local-maximum* der nächstgelegene Peak-Voxel mit der stärksten Aktivierung für jeden Probanden gesucht. Um eine Lage des Seed-Voxels im DLPFC zu gewährleisten, wurde die oben beschriebene Maske dieser Region verwendet. Die Zeitreihen wurden als erste Eigenvariate aller Voxel im Radius von 6 mm um den Peak-Voxel definiert. Die durch das Experiment verursachte Varianz wurde mittels einer effects-of-interest Korrektur mit einem entsprechenden F-Kontrast entfernt. Die statistische Analyse erfolgte in zwei Schritten als mixed-effects Analyse. Auf Ebene der einzelnen Probanden wurde ein fixed-effects GLM mit folgenden Regressoren durchgeführt: die extrahierte Zeitreihe aus dem DLPFC, 2-Back und 0-Back, Instruktions-Bedingung, die sechs Regressoren der Kopfbewegungen aus dem Realignment sowie zwei zusätzliche Regressoren zur Kontrolle von globalem Rauschen. Diese bestanden aus Zeitreihen die aus 1.) einer Maske der Liquor-Räume und 2.) einer Maske der weißen Substanz als Eigenvariate ohne Threshold ($p < 0.99$) extrahiert worden waren. Auf der Gruppenebene wurde eine random-effects Analyse auf Basis der β -Maps der Zeitreihen

(connectivity maps) durchgeführt. Alle Analysen wurden als ROI-Analyse (region-of-interest) auf den DLPFC beidseits sowie den Hippocampus beidseits mit einem FWE-korrigiertem Schwellenwert von $p < 0.05$ begrenzt.

Variante 1: Veränderte Seed-Voxel Auswahl

Um in einem vorher definierten Gehirnbereich für jeden Probanden die passenden Seed-Voxel zu finden, gibt es unterschiedliche Ansätze. Es wurde zunächst in der Referenz-Analyse von der Position des Gruppenmaximums aus das nächste lokale Maximum des jeweiligen Probanden gesucht. Eine ebenfalls valide und häufig verwendete Variante (beispielsweise Esslinger u. a. 2009) der Seed-Voxel Bestimmung ist für jeden Probanden das absolute, globale Aktivierungsmaximum, unabhängig vom Maximum in der Gruppenanalyse, im vorher definierten Gehirnbereich zu suchen. Es wurden hierfür die oben beschriebenen 2-Back > 0-Back Maps mit den gleichen Parametern verwendet (ROI-Analyse mit DLPFC-Maske, $p < 0.01$ unkorrigiert, Cluster > 20 Voxel). Die Effekte der Seed-Voxel Auswahl wurden im nächsten Schritt mittels eines 2x3 ANOVA-Modells mit den Faktoren Methode (next-local-max vs. global-max) und rs1006737-Genotyp (G/G, G/A, A/A) im Rahmen einer Second-Level-Analyse überprüft. Zusätzlich wurde für das Geschlecht der Probanden kontrolliert und dieses deshalb als Kovariate aufgenommen. Durch diese Analyse sollten sich Regionen zeigen, in denen es zu einer signifikanten Interaktion zwischen der verwendeten Seed-Voxel-Methode und dem untersuchten Genotyp kommt.

Variante 2: Veränderte Rausch-Kontrolle

Signalvarianz nicht-neuronalen Ursprungs kann zu einer Überschätzung der funktionellen Konnektivität führen. Deshalb ist es wichtig diese Varianz, vor der Auswertung und Interpretation von Konnektivitätsanalysen, zu kontrollieren (Murphy u. a. 2009). In der Referenz-Analyse geschieht dies durch die Verwendung von gemittelten Signalen aus definitiv nicht Neuronen enthaltenden Strukturen (Liquorräume: CSF – cerebrospinal fluid, Weiße Substanz: WM - white matter). Diese Zeitreihen werden als Kovariaten im Regressionsmodell verwendet, um damit für Signalvarianz, die ihren Ursprung in weißer Substanz oder in den Liquorräumen

hat, zu kontrollieren. Eine andere, nicht konkurrierende, Methode zur Kontrolle des Rauschens ist die globale Normalisierung. Bei der in SPM5 implementierten Funktion handelt es sich um eine Scan-weise, multiplikative Intensitäts-Normalisierung nach folgendem Prinzip:

$$I_{Voxel} = \frac{I_{Voxel}}{\bar{I}_{scan}} \cdot \bar{I}_{ersterScan}$$

Die Intensität (I) eines jeden Voxels wird durch die gemittelte Intensität des entsprechenden Scans dividiert und mit der mittleren Intensität des ersten Scans multipliziert. Der Effekt dieser Methode ist beispielhaft an einem simulierten Datensatz (200 Scans, 4 Voxel pro Scan, Signal mit simuliertem Drift) in Abbildung 4 gezeigt. In dieser Analyse-Variante verwendeten wir die globale Normalisierung zusätzlich zur Rausch-Kontrolle der Referenz-Analyse. Um den Effekt auf die Ergebnisse der Konnektivitätsanalyse zu untersuchen, wurde im nächsten Schritt erneut ein 2x3 ANOVA-Modell mit den Faktoren Methode (ohne globale Normalisierung vs. mit globaler Normalisierung) und rs1006737-Genotyp als Second-Level-Analyse durchgeführt. Das Geschlecht der Probanden wurde ebenfalls wieder als Kovariate aufgenommen. Ziel dieser Analyse war auch diesmal, Regionen zu identifizieren, in denen es zu einer signifikanten Interaktion zwischen der verwendeten Rausch-Kontroll-Methode und dem untersuchten Genotyp kommt.

Variante 3: Räumliche Information als Kovariate

Auf allen Ebenen der Konnektivitätsanalyse kann die Verwendung von Kovariaten sinnvoll sein, um die Varianz in den zu untersuchenden Daten zu erklären, die nicht auf die neuronale Aktivität zurückgeht. In dieser dritten Variante der Referenzanalyse wurden die MNI-Koordinaten der individuellen Seed-Voxel als drei Kovariaten in einem linearen Regressionsmodell aufgenommen, mit dem ein additiver Gen-Dosis-Effekt modelliert wurde (G/G < G/A < A/A). Auch hier wurde das Geschlecht der Probanden als zusätzliche Kovariate aufgenommen.

Kapitel 4

Ergebnisse und Diskussion

4.1 Variante 1: Effekte der Seed-Voxel-Auswahl

Einen ersten Überblick über den Effekt der beiden unterschiedlichen Seed-Voxel Auswahlmethoden gibt Abbildung 5. Jeder rote Punkt entspricht dem Seed-Voxel eines Probanden. Optisch ist zu erkennen, dass die Seed-Voxel bei der Referenz-Analyse mit der Methode des nächsten lokalen Maximums (links) wesentlich gedrängter um das Gruppenmaximum liegen. Die variierte Analyse führt zu einer deutlichen Streuung, vor allem entlang der y- und z-Achse. Die Verteilung entlang der jeweiligen Achse ist in Abbildung 6 dargestellt.

Zur Überprüfung, ob die Seed-Voxel sich in bestimmten Bereichen konzentrieren, wurde eine k-means Klusteranalyse mit den x-, y- und z-Koordinaten als räumliche Variablen durchgeführt. Es zeigte sich eine Konzentration um zwei Punkte im Bereich des vorderen (MNI 35,36,7) sowie des hinteren (MNI 48,29,31) DLPFC. Der Abstand zwischen diesen Punkten beträgt 3.8 cm. Während der hinter Cluster in der Nähe der stärksten Gruppenaktivierung zu finden war, zeigte sich in der Nähe des vorderen Clusters ein lokales Aktivierungsmaximum bei (MNI 34,58,10). Die wesentlich geringere Streuung der Seed-Voxel in der angewendeten Variante des nächsten lokalen Maximums als bei der Variante des globalen Maximums erklärt sich möglicherweise dadurch, dass Seed-Voxel aus zwei unterschiedlichen funktionellen Bereichen des DLPFC gewählt wurden.

In der oben beschriebenen Untersuchung auf eine Interaktion der Faktoren

Seed-Voxel-Auswahl und Genotyp zeigte sich eine signifikante Interaktion im linken, vorderen Hippocampus ((MNI -36,-10,-20), $Z = 4.41$, $p(\text{cor}) = 0.002$). In der Schätzung der Parameter ergab sich die Erklärung für diese Interaktion. Mit der Methode des nächsten lokalen Maximums zeigte sich im Bereich des Hippocampus ein linearer Gen-Dosis-Effekt, in diesem Fall eine zunehmende Konnektivität mit steigender Anzahl an Risiko-Allelen, zu sehen in Abbildung 7. Dies entspricht der Dyskonnektivitäts-Hypothese¹ der Schizophrenie (Meyer-Lindenberg 2010). Mit der Methode des globalen Maximums ist dieser Gen-Dosis-Effekt nicht zu finden, die stärkste Konnektivität zeigt sich bei Heterozygoten, bei homozygotem Risiko-allele ist die schwächste Konnektivität zu finden, ebenfalls in Abbildung 7 gezeigt.

Wie im vorherigen Abschnitt bereits erwähnt, scheinen die Seed-Voxel beim Ansatz des globalen Maximums in zwei distinkten Bereichen des DLPFC mit möglicherweise unterschiedlichen Funktionen zu liegen. Deshalb erscheint für die vorliegenden Daten und die Fragestellung die Methode des nächsten lokalen Maximums am besten geeignet. In anderen Fällen kann aber auch die Methode des globalen Maximums zu einer ähnlichen, und damit plausiblen, Verteilung der Seed-Voxel führen (Paulus, Krach u. a. 2013). Es kann also keine generelle Empfehlung zur Wahl der Methode gegeben werden. Allerdings erscheint eine Überprüfung der räumlichen Verteilung sowie eine Publikation der Koordinaten, vor allem im Hinblick auf eine gute Vergleichbarkeit von Studien, sinnvoll.

4.2 Variante 2: Effekte der veränderten Rausch-Kontrolle

Beim ersten Vergleich der beiden Analyse-Varianten ohne und mit globaler Normalisierung zeigt sich grundsätzlich ein übereinstimmendes Muster der Konnektivität. Dieses entspricht der funktionellen Integration des Netzwerkes, welches während der Arbeitsgedächtnis-Aufgabe aktiviert wird (Abbildung 8). Die stärksten Korrelationen bestehen zwischen Seed-Region im rechten DLPFC und den beiden DLPFC. Weitere positive Korrelationen bestehen symmetrisch zu superioren frontalen

¹Im Gegensatz zur Dis-Konnektivität umfasst die Dys-Konnektivität auch stärkere Verbindungen.

Kortexarealen, dem inferioren Parietallappen, den Basalganglien und dem Cerebellum. Ein deutlicher Unterschied zwischen den Methoden zeigt sich dagegen in fast allen anderen kortikalen und subkortikalen Regionen. Ohne globale Normalisierung zeigt sich auch in diesen Gebieten des Gehirns eine positive Korrelation mit dem rechten DLPFC. Mit globaler Normalisierung hingegen findet sich in diesen Arealen eine negative Korrelation. Ohne globale Normalisierung zeigen sich positiven Korrelationen in den Bereichen des Gehirns, welche keine funktionelle Einheit bilden. Diese können als Hinweise dafür gewertet werden, dass trotz der verwendeten Kovariaten mit Rausch-Signalen aus weißer Substanz und den Liquorräumen ein beträchtlicher Teil der Signal-Varianz auf Rauschen zurückzuführen ist. Dieser Befund ist aber auch ein Hinweis darauf, dass die globale Normalisierung allgemeines Rauschen gut unterdrücken und so die Spezifität der korrelierten Areale erhöhen kann.

In der 2x3 ANOVA zeigte sich keine signifikante Interaktion (keine signifikanten Voxel für einen Threshold von $p < 0.05$ (FWE)) zwischen den Faktoren Methode und Genotyp. Dies sollte jedoch nicht zu einer Unterschätzung des Einflusses der verwendeten Methode führen. Abhängig von der verwendeten Methode fanden sich in der second-level Analyse Areale mit einem signifikanten Unterschied in der Konnektivität bezogen auf den Genotyp nur bei einer Variante. (Abbildung 9). Für sich alleine betrachtet, würde jede Analyse zudem zu sehr unterschiedlichen Interpretationen der Ergebnisse führen. Mit beiden Methoden zeigte sich im Bereich des rechten Hypocampus ein linearer Anstieg der Konnektivität mit Anzahl der Risikoallele. Der Unterschied zwischen den Genotypen war für die Referenz-Analyse signifikant und würde wahrscheinlich als Entkopplung zwischen DLPFC für den Genotyp G/G sowie pathologischer Konnektivität mit Risikoallelen interpretiert werden. Mit globaler Normalisierung wäre es wahrscheinlich zu einer anderen Interpretation der Ergebnisse gekommen. Der Hippocampus ist negativ korreliert mit dem rechten DLPF und mit steigendem genetischen Risiko kommt es zu einer Aufhebung dieser negativen Korrelation.

Beide Interpretationen für sich alleine erscheinen ohne Frage valide. Allerdings ist zu erkennen, dass es je nach Methode zu unterschiedlichen, artifiziellen Interpretation kommen kann. Generell sollte beachtet werden, dass globale Normalisierung zu verstärkten Antikorrelationen führt (Murphy u. a. 2009).

4.3 Variante 3: Effekte der räumlichen Information als Kovariate

In dem linearen Regressionsmodell fand sich im rechten DLPFC ein Gen-Dosis-Effekt mit einer deutlich niedrigeren Aktivität für Probanden mit homozygotem Risikoallel bei (MNI 54,10,38), ($Z = 4.02$, $p(\text{corr}) = 0.015$). An der gleichen Lokalisation erbrachte die Referenz-Analyse einen ebenfalls signifikanten, linearen Gen-Dosis-Effekt für die Konnektivität mit dem rechten DLPFC ($Z = 3.89$, $p(\text{corr}) = 0.035$), zu sehen in Abbildung 10. Dieser Befund könnte dahingehend interpretiert werden, dass die verminderte Aktivität in diesem Bereich des Gehirns bei homozygotem Risikoallel die Folge einer verringerten Konnektivität von Kernregionen des Working-Memory-Netzwerkes mit der Seed-Region ist.

Obwohl der hier verwendete next-local-maximum Ansatz eine homogene räumliche Verteilung der Seed-Voxel zeigte, ergab eine post-hoc Analyse lediglich einen Trend in Richtung einer unterschiedlichen Verteilung der Koordinaten in y-Richtung zwischen den unterschiedlichen rs1006737-Genotypen (ANOVA, $F(2,90) = 2.96$, $p = 0.57$). Der Test für eine lineare, modellkonforme Assoziation zeigte dann einen signifikanten Unterschied in der Verteilung auf der y-Achse ($G/G < G/A < A/A$, $r = 0.24$, $p = 0.023$). Dies führte zu der Überlegung, die x- y- und z-Koordinaten der Seed-Voxel als *covariate of no interest* in das oben beschriebene Regressionsmodell einzufügen. Daraus ergab sich, dass in der untersuchten Region des DLPFC kein signifikanter Unterschied in der Konnektivität zwischen den rs1006737-Genotypen zu finden war. Das stärkste Cluster fand sich bei (MNI 53,6,38) ($Z = 3.01$, $p(\text{corr}) = 0.38$).

Dies ist ein Hinweis darauf, dass der initial vermutete Gruppenunterschied in der Zeit-Domäne tatsächlich ein statistisches Artefakt ist. Dieses könnte durch die Intergruppenvarianz in der Raum-Domäne verursacht worden sein. Der hier verwendete Ansatz der Seed-Voxel-Konnektivität ist dafür grundsätzlich anfällig. Auf der Ebene einzelner Probanden kommt es durch Autokorrelation dazu, dass die stärkste Konnektivität in der Seed-Region sowie kontralateralen, homologen Arealen gefunden wird. Wenn sich dann eine größere räumliche Varianz zwischen den Seed-Regionen der Probanden zeigt, kann es zu einer Kontamination der gefundenen Gruppenunterschiede kommen. Da die Größe des autokorrelativen Effekts

nicht bekannt ist und wahrscheinlich zwischen Individuen, dem verwendeten Paradigma und der technischen Implementierung der Messung variiert, sollte möglichst immer, auch bei nicht signifikanten Gruppenunterschieden, eine Kontrolle für die Varianz in der Lokalisation der Seed-Voxel erfolgen. Dies wurde hier beispielhaft in Form von drei zusätzlichen Kovariaten in Form der MNI-Koordinaten gezeigt. Auch wenn hierdurch drei Freiheitsgrade verloren gehen, wird die Interpretation des Analyse-Ergebnisses, vor allem von Untersuchungen über große Populationen, wahrscheinlich wesentlich valider und reproduzierbarer.

4.4 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse von fMRT-Untersuchungen sind abhängig von unterschiedlichen, prinzipiell frei wählbaren technischen Parametern (Cole, Smith und Beckmann 2010; Van Dijk u. a. 2010). In dieser Arbeit konnte exemplarisch an den drei Parametern Seed-Voxel-Auswahl, Rauschkontrolle und räumlichen Variablen als Kovariaten gezeigt werden, dass auch die Interpretation von genetischen Effekten auf neuronale System davon abhängig ist. Sie stellt keine systematische und keine umfassende Untersuchung über mögliche Schwierigkeiten und deren Lösung von funktionellen Konnektivitätsanalysen dar. Trotzdem können folgende Schlussfolgerungen und Empfehlungen gegeben werden: (i) Es sollte in zukünftigen Publikationen immer die Technik der Seed-Voxel-Extraktion sowie deren räumliche Verteilung berichtet werden; (ii) Auch bei nicht statistisch signifikanter Varianz in der Verteilung der Seed-Voxel sollte diese Varianz immer in Form von Kovariaten in der weiteren Analyse berücksichtigt werden. Hiervon sind Ansätze mit einem fixen Punkt der Seed-Extraktion ausgenommen, wie sie beispielsweise im Rahmen von Resting-State-Analysen Verwendung finden; (iii) Die Richtung und die Stärke eines genetischen Effekts sollten immer mit Vorsicht interpretiert werden.

Für andere genetische Risikofaktoren, andere Experimente und sogar andere gerätetechnische Gegebenheiten ist zu erwarten, dass die Effekte der Parameter sich qualitativ und auch quantitativ unterscheiden. Mit der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass technische Variabilität per se einen Einfluss auf die Ergebnisse von Untersuchungen dieser Art hat. Daher ist es auch nicht möglich, zu einem der untersuchten Parameter eine klare und allgemeingültige Empfehlung

zu geben. Exemplarisch könnte man schlussfolgern, dass in den meisten Fällen die Methode des nächsten lokalen Maximums zur Seed-Voxel-Extraktion am sinnvollsten ist. Jedoch kann es je nach Fragestellung und vor allem je nach untersuchter Struktur auch nachteilig sein diese zu verwenden. Vor allem die Frage nach der Rauschkontrolle kann nicht eindeutig beantwortet werden. Wesentlich wichtiger erscheint hingegen eine konservative Haltung bei der Interpretation der gefundenen Ergebnisse anzustreben. Soll der Effekt von mehreren Parametern auf die Analyse-Ergebnisse systematisch untersucht werden, ist eine weitgehende Automatisierung möglichst vieler Analyseschritte notwendig. Da es bei größeren Untersuchungen mit vielen Probanden und bei manueller Eingabe der Analyseparameter zu einem starken Anstieg der Rechenzeit bzw. Arbeitszeit² kommen kann, könnte eine weitgehend automatisierte Auswertung, beispielsweise mit Hilfe einer Batch-Software, sinnvoll sein. Bei offensichtlicher Fehlausewahl eines Parameters kann so die Schwelle, eine erneute korrekte Analyse durchzuführen, gesenkt werden.

4.5 Notwendige weitere Forschung

In dieser Arbeit konnte für einige wenige Auswertungsparameter gezeigt werden, dass sie signifikanten Einfluss auf die Ergebnisse von funktionellen Konnektivitätsanalysen mittels fMRT haben können. Es ist zu erwarten dass dies bei anderen Parametern ähnlich oder sogar stärker ausgeprägt ist, daher kann es sinnvoll sein noch weitere relevante Parameter zu identifizieren.

Des Weiteren besteht eine grundsätzliche Notwendigkeit von methodischer Forschung, auch in einem schon so lange etablierten Feld wie der fMRT. Wie in der Diskussion bereits dargestellt, lassen sich keine klaren Richtlinien für die untersuchten Parameter mit Hilfe dieser Arbeit aufstellen. Vielleicht kann dieses Problem in Zukunft mit verbesserten Methoden umgangen werden.

Und letztendlich sollten die Erkenntnisse die aus dieser methodischen Forschung erwachsen, dazu verwendet werden Replikationen von medizinisch-neurowissenschaftlichen Forschungsprojekten zu erleichtern. Durch eine vergleichbare und vor allem publizierte Methodik wird die Bewertung von Replikationsarbeiten

²Ganz abgesehen von der deutlich erhöhten Wahrscheinlichkeit von Eingabefehlern bei der manuellen Dateneingabe.

besser werden, was langfristig wichtig ist um neue Erkenntnisse oder gar Behandlungsmöglichkeiten zu den Erkrankungen des zentralen Nervensystems zu gewinnen.

Abbildungen und Tabellen

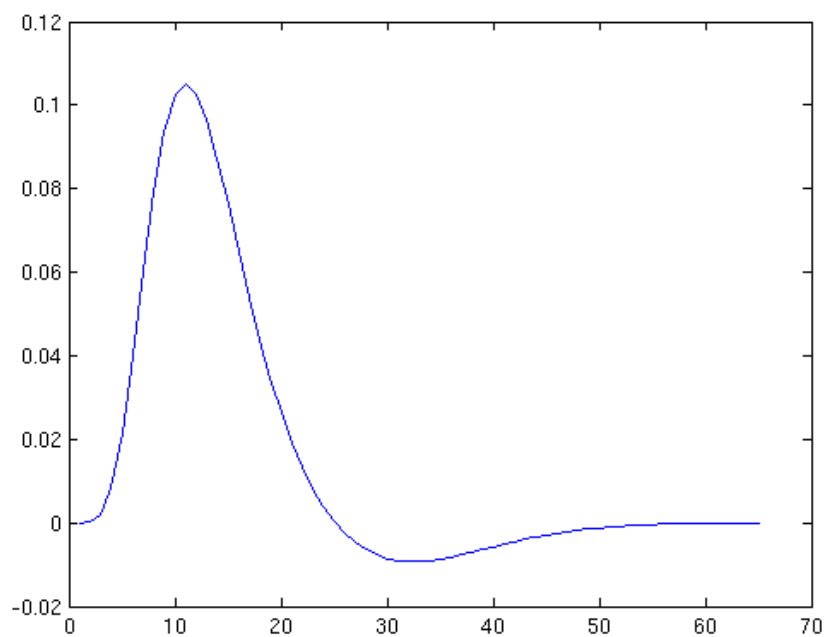


Abbildung 1: Prototypische HRF, X-Achse: Zeitverlauf, Y-Achse: BOLD-Signal.



Abbildung 2: Schema des zeitlichen Ablauf des Experiments. Baseline (B), 0-back (0), 2-back (2).

rs1006737 Genotyp	G/G	G/A	A/A
Anzahl	44	38	12
Geschlecht (m/w)	36/8	24/14	6/6
Alter (Jahre)	23.5±3.3	23.1±2.8	23.0±1.0
Bildungsjahre	15.9±2.8	15.4±2.5	15.8±1.6

Tabelle 1: Übersicht über Populationscharakteristika der untersuchten Probanden.

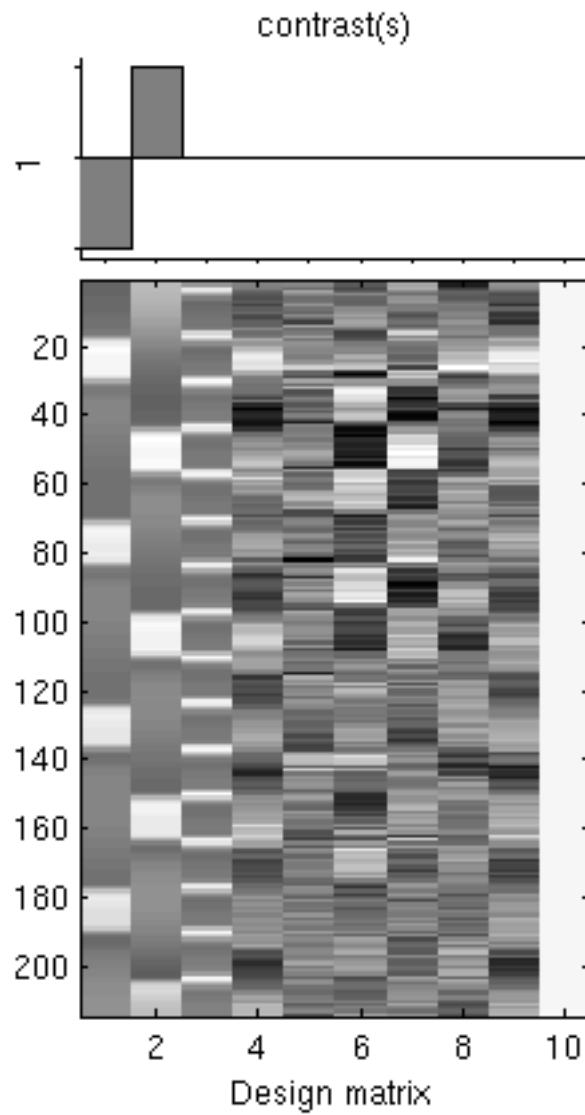


Abbildung 3: Beispielhafte Designmatrix. Jede Spalte entspricht einem Regressor des GLM. Der Zeitverlauf ist von oben nach unten abgetragen. In der Kopfzeile ist eine typische Gewichtung für einen F-Kontrast zu sehen.

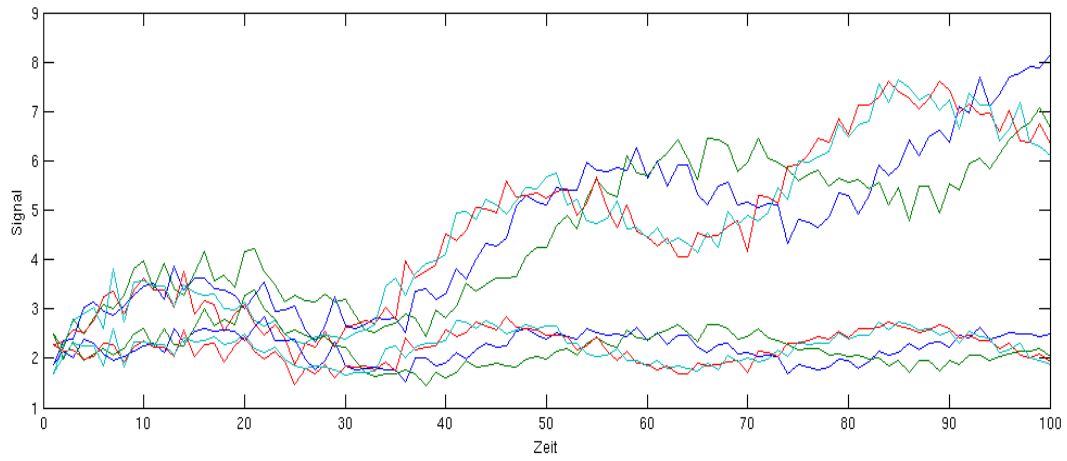


Abbildung 4: Simulation des Effektes der globalen Normalisierung von SPM5. Durch das Verfahren wird vor allem der Signal-Drift kompensiert.

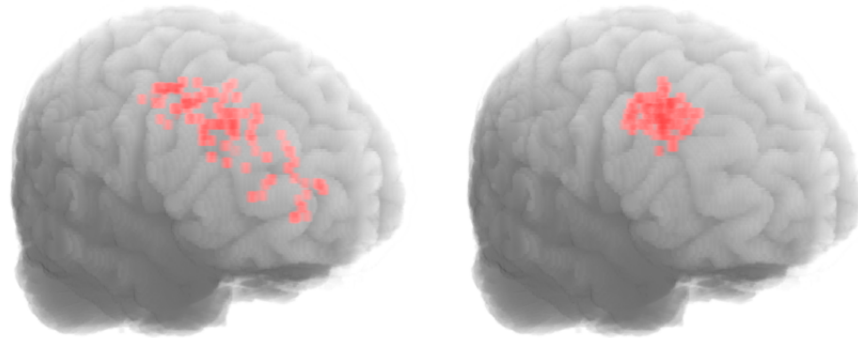


Abbildung 5: Räumliche Verteilung der Seed-Voxel mit Methode global maximum (links) sowie next local maximum (rechts).

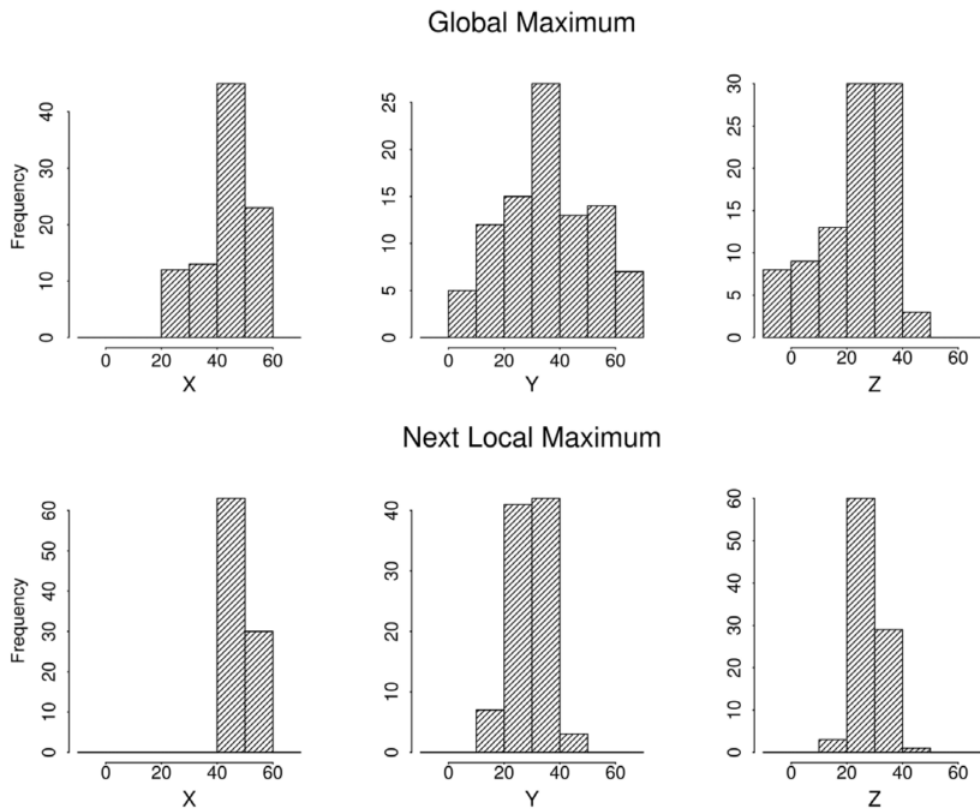


Abbildung 6: Graphische Darstellung der Koordinaten auf den drei Achsen des Raums. Bei der Methode global maximum ist eine deutlich größere Streuung zu erkennen.

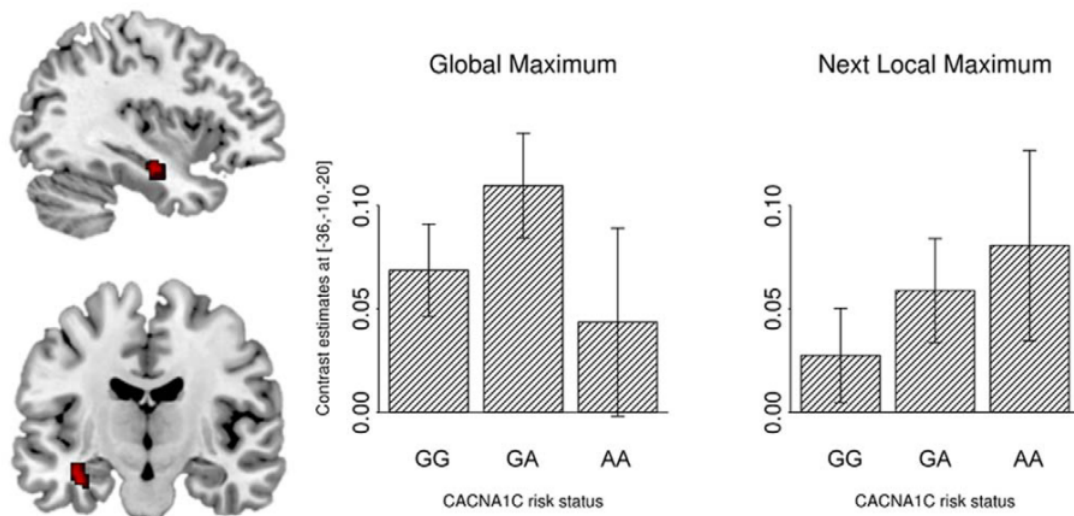


Abbildung 7: Ein modellkonformer Zusammenhang im Sinne eines linearen Gen-Dosis-Effekts zeigt sich nur bei Verwendung der next local maximum Methode.

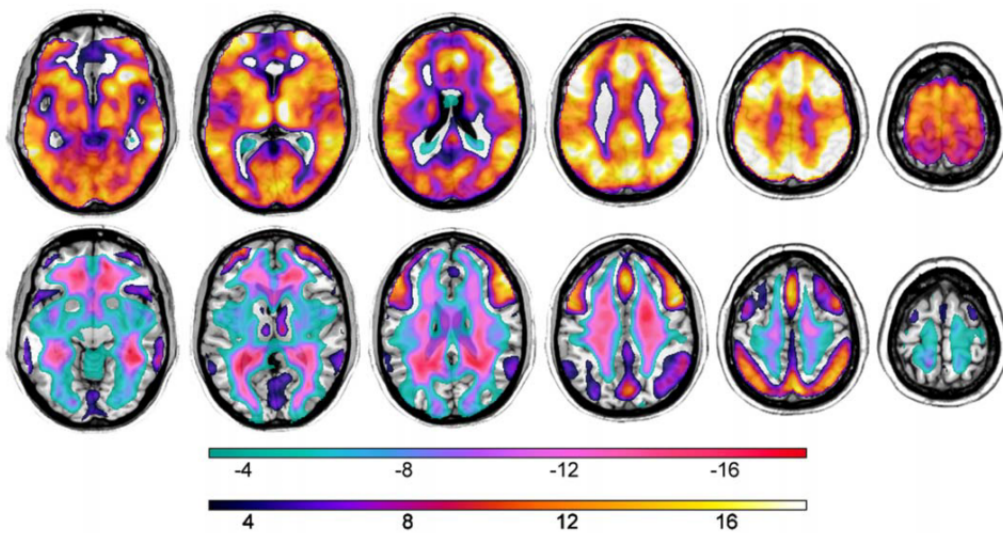


Abbildung 8: Konnektivitäts-Muster ohne (oben) und mit zusätzlicher Rausch-Kontrolle durch globale Normalisierung (unten).

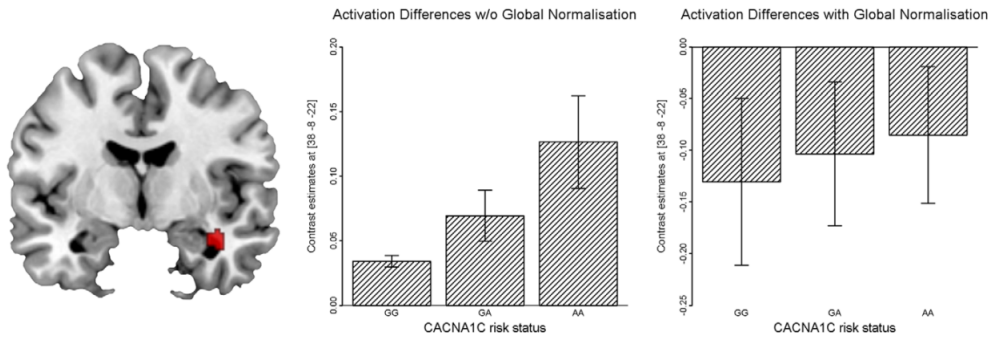


Abbildung 9: Ein signifikanter Gen-Dosis-Effekt findet sich nur ohne globale Normalisierung. Zudem würde dieses Ergebnis zu einer anderen Interpretation der Ergebnisse führen (verstärkte Konnektivität vs. verminderte Diskonnektivität).

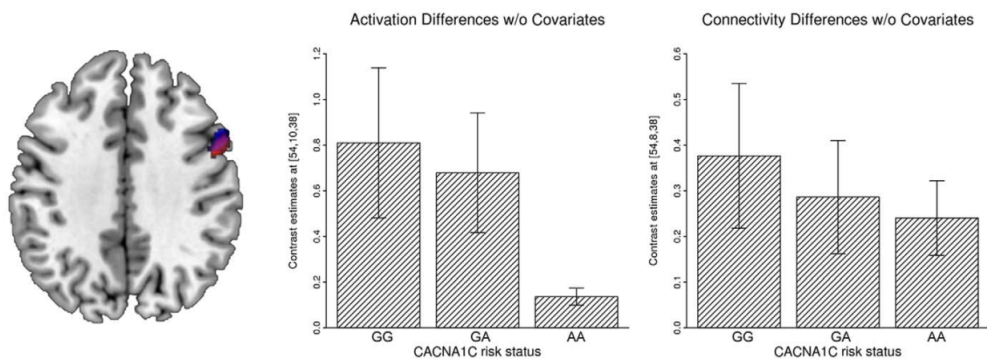


Abbildung 10: An der gleichen Lokalisation im rechten DLPFC zeigen sich sowohl in der Aktivitätsuntersuchung als auch in der Konnektivitätsanalyse signifikante Unterschiede zwischen den Genotyp-Varianten beim Verzicht auf zusätzliche Kovariaten.

Abkürzungsverzeichnis

DALY	disease-adjusted life years
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DCM	dynamic casual modelling
DTI	diffusion tensor imaging
EEG	Enzephaloelektrogramm
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
GWAS	genomweite Assoziationsstudien
HRF	Hemodynamic response function
ICA	Indipendent component analysis
MRT	Magnetresonanztomographie
PPI	psychophysiologische Interaktionen
SNP	single nucleotide polymorphism
WHO	Weltgesundheitsorganisation

Literatur

- Andreasen, N (2000). »Schizophrenia: The fundamental questions«. In: *Brain Research Reviews* 31.2-3, S. 106–112.
- Andreasen, N und M Flaum (1991). »Schizophrenia: the characteristic symptoms.« In: *Schizophrenia bulletin* 17.1, S. 27–49.
- Avesani, Paolo u. a. (2015). »Non-parametric temporal modeling of the hemodynamic response function via a liquid state machine.« In: *Neural networks : the official journal of the International Neural Network Society* 70, S. 61–73.
- Baldessarini, R, L Tondo und C Visoli (2014). »First-episode types in bipolar disorder: predictive associations with later illness.« In: *Acta psychiatrica Scandinavica* 129.5, S. 383–92.
- Barnett, J H und J W Smoller (2009). »The genetics of bipolar disorder«. In: *Neuroscience* 164.1, S. 331–343.
- Bartko, J J, J S Strauss und W T Carpenter (1974). »The diagnosis and understanding of schizophrenia. Part II. Expanded perspectives for describing and comparing schizophrenic patients.« In: *Schizophrenia bulletin* 11, S. 50–60.
- Basser, P J, J Mattiello und D LeBihan (1994). »MR diffusion tensor spectroscopy and imaging.« In: *Biophysical journal* 66.1, S. 259–267.
- Battle, Y L u. a. (1999). »Seasonality and infectious disease in schizophrenia: The birth hypothesis revisited«. In: *Journal of Psychiatric Research* 33.6, S. 501–509.
- Beckmann, C F u. a. (2005). »Investigations into resting-state connectivity using independent component analysis.« In: *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 360.1457, S. 1001–13.

- Belliveau, J W u. a. (1991). »Functional mapping of the human visual cortex by magnetic resonance imaging.« In: *Science (New York, N.Y.)* 254.5032, S. 716–719.
- Bigos, K L u. a. (2010). »Genetic variation in CACNA1C affects brain circuitries related to mental illness.« In: *Archives of general psychiatry* 67.9, S. 939–45.
- Black, D W und A Nasrallah (1989). »Hallucinations and delusions in 1,715 patients with unipolar and bipolar affective disorders.« In: *Psychopathology* 22.1, S. 28–34.
- Boomsma, D, A Busjahn und L Peltonen (2002). »Classical twin studies and beyond.« In: *Nature reviews. Genetics* 3.11, S. 872–882.
- Bourque, F, E van der Ven und A Malla (2011). »A meta-analysis of the risk for psychotic disorders among first- and second-generation immigrants.« In: *Psychological medicine* 41, S. 897–910.
- Büchel, C und K Friston (1997). »Modulation of connectivity in visual pathways by attention: cortical interactions evaluated with structural equation modelling and fMRI.« In: *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)* 7.8, S. 768–778.
- Buckley, P F u. a. (2009). »Psychiatric comorbidities and schizophrenia.« In: *Schizophrenia Bulletin* 35.2, S. 383–402.
- Bullmore, E u. a. (2000). »How good is good enough in path analysis of fMRI data?« In: *NeuroImage* 11.4, S. 289–301.
- Cannon, T D u. a. (2005). »Dorsolateral prefrontal cortex activity during maintenance and manipulation of information in working memory in patients with schizophrenia.« In: *Archives of general psychiatry* 62.10, S. 1071–80.
- Cannon, T u. a. (1998). »The genetic epidemiology of schizophrenia in a Finnish twin cohort. A population-based modeling study.« In: *Archives of general psychiatry* 55.1, S. 67–74.
- Cardno, A G u. a. (1999). »Heritability estimates for psychotic disorders: the Maudsley twin psychosis series.« In: *Archives of general psychiatry* 56.2, S. 162–168.
- Chakravarti, A und P Little (2003). »Nature, nurture and human disease.« In: *Nature* 421.6921, S. 412–414.

- Chanraud, S u. a. (2010). »MR diffusion tensor imaging: A window into white matter integrity of the working brain«. In: *Neuropsychology Review* 20.2, S. 209–225.
- Clarke, M C, M Harley und M Cannon (2006). »The role of obstetric events in schizophrenia«. In: *Schizophrenia Bulletin* 32.1, S. 3–8.
- Cole, D M, S M Smith und C F Beckmann (2010). »Advances and pitfalls in the analysis and interpretation of resting-state FMRI data.« In: *Frontiers in systems neuroscience* 4, S. 8.
- Craddock, N und P Sklar (2013). »Genetics of bipolar disorder.« In: *Lancet* 381.9878, S. 1654–62.
- Dale, A M, B Fischl und M I Sereno (1999). »Cortical surface-based analysis. I. Segmentation and surface reconstruction.« In: *NeuroImage* 9.2, S. 179–194.
- Dierks, T und D Hubl (2008). *Neuropsychologie der Schizophrenie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, S. 412–426.
- D’Onofrio, B M u. a. (2014). »Paternal age at childbearing and offspring psychiatric and academic morbidity.« In: *JAMA psychiatry* 71.4, S. 432–8.
- Esslinger, C u. a. (2009). »Neural mechanisms of a genome-wide supported psychosis variant.« In: *Science (New York, N.Y.)* 324.5927, S. 605.
- Etain, B u. a. (2013). »Childhood trauma is associated with severe clinical characteristics of bipolar disorders.« In: *The Journal of clinical psychiatry* 74.10, S. 991–8.
- Falconer, D S und F C Mackay (1996). *Introduction to quantitative genetics*. 4th. Pearson: Harlow.
- Fink, M und M A Taylor (2010). »The Catatonia Syndrome«. In: *Archives of General Psychiatry* 66.11, S. 1173–1177.
- Fischer, B A und W T Carpenter (2009). »Will the Kraepelinian dichotomy survive DSM-V?« In: *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 34.9, S. 2081–7.
- Friston, K (2003). »Dynamic Causal Modelling«. In: *Human Brain Function: Second Edition*. Bd. 19. 4, S. 1063–1090.
- Friston, K, J Ashburner u. a. (2007). *Statistical Parametric Mapping: The Analysis of Functional Brain Images*. Hrsg. von K J Friston u. a. Academic Press.

- Friston, K, C Buechel u. a. (1997). »Psychophysiological and modulatory interactions in neuroimaging.« In: *NeuroImage* 6.3, S. 218–229.
- Friston, K, P Fletcher u. a. (1998). »Event-related fMRI: characterizing differential responses.« In: *NeuroImage* 7.1, S. 30–40.
- Friston, K, A Holmes u. a. (1995). »Statistical parametric maps in functional imaging: A general linear approach.« In: *Human Brain Mapping* 2.4, S. 189–210.
- Friston, K, P Jezzard und R Turner (1994). »Analysis of functional MRI time-series.« In: *Human Brain Mapping* 1.2, S. 153–171.
- Friston, K, S Williams u. a. (1996). »Movement-related effects in fMRI time-series.« In: *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 35.3, S. 346–355.
- Fu, W, T D O'Connor und J M Akey (2013). »Genetic architecture of quantitative traits and complex diseases.« In: *Current opinion in genetics & development* 23.6, S. 678–83.
- Fusar-Poli, P und P Politi (2008). »Paul Eugen Bleuler and the birth of schizophrenia (1908).« In: *The American journal of psychiatry* 165.11, S. 1407.
- Genovese, C R, N Lazar und T Nichols (2002). »Thresholding of statistical maps in functional neuroimaging using the false discovery rate.« In: *NeuroImage* 15.4, S. 870–878.
- Gilman, S E u. a. (2014). »Contributions of the social environment to first-onset and recurrent mania.« In: *Molecular psychiatry*.
- Girard, S L u. a. (2011). »Where are the missing pieces of the schizophrenia genetics puzzle?« In: *Current opinion in genetics & development* 21.3, S. 310–6.
- Goebel, R, F Esposito und E Formisano (2006). »Analysis of Functional Image Analysis Contest (FIAC) data with BrainVoyager QX: From single-subject to cortically aligned group General Linear Model analysis and self-organizing group Independent Component Analysis.« In: *Human Brain Mapping* 27.5, S. 392–401.
- Gottesman, I I und T D Gould (2003). *The endophenotype concept in psychiatry: Etymology and strategic intentions*. arXiv: [appi.ajp.160.4.636](https://arxiv.org/abs/appi.ajp.160.4.636) [10.1176].

- Goutte, C, F A Nielsen und L K Hansen (2000). »Modeling the haemodynamic response in fMRI using smooth FIR filters.« In: *IEEE transactions on medical imaging* 19.12, S. 1188–1201.
- Green, E K u. a. (2010). »The bipolar disorder risk allele at CACNA1C also confers risk of recurrent major depression and of schizophrenia.« In: *Molecular psychiatry* 15.10, S. 1016–22.
- Gross, G und G Huber (2008). »[Psychopathology of schizophrenia and brain imaging].« In: *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie* 76 Suppl 1, S49–56.
- Hagmann, P u. a. (2010). »MR connectomics: Principles and challenges.« In: *Journal of Neuroscience Methods* 194.1, S. 34–45.
- Harris, A (1992). »Cystic fibrosis gene.« In: *British medical bulletin* 48.4, S. 738–753.
- Heinrichs, D W und R W Buchanan (1988). »Significance and meaning of neurological signs in schizophrenia.« In: *The American journal of psychiatry* 145.1, S. 11–8.
- Hirschhorn, J N und M J Daly (2005). »Genome-wide association studies for common diseases and complex traits.« In: *Nature reviews. Genetics* 6.2, S. 95–108.
- Ingram, V M (1957). »Gene mutations in human haemoglobin: the chemical difference between normal and sickle cell haemoglobin.« In: *Nature* 180.4581, S. 326–328.
- Jansen, Andreas u. a. (2009). »A putative high risk diplotype of the G72 gene is in healthy individuals associated with better performance in working memory functions and altered brain activity in the medial temporal lobe.« In: *NeuroImage* 45.3, S. 1002–1008.
- Jenkinson, Mark u. a. (2012). *FSL*.
- Johannsen, W (1909). *Elemente der exakten erblichkeitslehre. Deutsche wesentlich erweiterte ausgabe in fünfundzwanzig vorlesungen, von W. Johannsen*. Jena, G. Fischer, S. 530.
- Kandel, E R (1998). »A new intellectual framework for psychiatry.« In: *The American journal of psychiatry* 155.4, S. 457–469.

- Keck, Paul E u. a. (2003). »Psychosis in bipolar disorder: phenomenology and impact on morbidity and course of illness.« In: *Comprehensive psychiatry* 44.4, S. 263–9.
- Kendler, K S (1993). »Twin studies of psychiatric illness. Current status and future directions.« In: *Archives of general psychiatry* 50.11, S. 905–915.
- Kircher, T und S Gauggel (2008). *Neuropsychologie der Schizophrenie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Kircher, T, A Krug u. a. (2009). »Genetic variation in the schizophrenia-risk gene neuregulin I correlates with brain activation and impaired speech production in a verbal fluency task in healthy individuals«. In: *Human Brain Mapping* 30.10, S. 3406–3416.
- Kirkpatrick, Brian u. a. (2000). »Assessing the efficacy of treatments for the deficit syndrome of schizophrenia«. In: *Neuropsychopharmacology* 22.3, S. 303–310.
- Krabbendam, L und J Van Os (2005). »Schizophrenia and urbanicity: A major environmental influence - Conditional on genetic risk«. In: *Schizophrenia Bulletin* 31.4, S. 795–799.
- Kringlen, E (2000). »Twin studies in schizophrenia with special emphasis on concordance figures«. In: *American Journal of Medical Genetics - Seminars in Medical Genetics* 97.1, S. 4–11.
- Krug, A u. a. (2010). »The effect of Neuregulin 1 on neural correlates of episodic memory encoding and retrieval«. In: *NeuroImage* 53.3, S. 985–991.
- Lieberman, M D und W A Cunningham (2009). »Type I and Type II error concerns in fMRI research: Re-balancing the scale«. In: *Social Cognitive and Affective Neuroscience* 4.4, S. 423–428.
- Logothetis, N K u. a. (2001). »Neurophysiological investigation of the basis of the fMRI signal.« In: *Nature* 412.6843, S. 150–157.
- Ma, L u. a. (2007). »Detecting functional connectivity in the resting brain: a comparison between ICA and CCA«. In: *Magn Reson Imaging* 25.1, S. 47–56.
- Mackay, T F C (2001). »The Genetic Architecture of Quantitative Traits«. In: *Annual Review of Genetics* 35.1, S. 303–339.
- McGrath, J u. a. (2008). »Schizophrenia: a concise overview of incidence, prevalence, and mortality.« In: *Epidemiologic reviews* 30, S. 67–76.

- McKeown, M J u. a. (1998). »Analysis of fMRI data by blind separation into independant spatial components«. In: *Human Brain Mapping* 6.June 1997, S. 160–188.
- Merikangas, K R u. a. (2011). »Prevalence and correlates of bipolar spectrum disorder in the world mental health survey initiative.« In: *Archives of general psychiatry* 68.3, S. 241–51.
- Meyer-Lindenberg, A (2010). »From maps to mechanisms through neuroimaging of schizophrenia.« In: *Nature* 468.7321, S. 194–202.
- Meyer-Lindenberg, A und D R Weinberger (2006). »Intermediate phenotypes and genetic mechanisms of psychiatric disorders.« In: *Nature reviews. Neuroscience* 7.10, S. 818–27.
- Miller, B u. a. (2011). »Meta-analysis of paternal age and schizophrenia risk in male versus female offspring.« In: *Schizophrenia bulletin* 37.5, S. 1039–47.
- Moskvina, V u. a. (2009). »Gene-wide analyses of genome-wide association data sets: evidence for multiple common risk alleles for schizophrenia and bipolar disorder and for overlap in genetic risk.« In: *Molecular psychiatry* 14.3, S. 252–60.
- Murphy, K u. a. (2009). »The impact of global signal regression on resting state correlations: are anti-correlated networks introduced?« In: *NeuroImage* 44.3, S. 893–905.
- Murray, C J L u. a. (2012). »Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010.« In: *Lancet* 380.9859, S. 2197–223.
- Nobelprize.org* (2013).
- Nyegaard, M u. a. (2010). »CACNA1C (rs1006737) is associated with schizophrenia.« In: *Molecular psychiatry* 15.2, S. 119–21.
- Ogawa, S und T M Lee (1990). »Magnetic resonance imaging of blood vessels at high fields: in vivo and in vitro measurements and image simulation.« In: *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 16.1, S. 9–18.

- Ogawa, S, T M Lee, A R Kay u. a. (1990). »Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation.« In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87.24, S. 9868–9872.
- Ogawa, S, T M Lee, A S Nayak u. a. (1990). »Oxygenation-sensitive contrast in magnetic resonance image of rodent brain at high magnetic fields«. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 14.1, S. 68–78.
- Oldfield, R C (1971). »The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory«. In: *Neuropsychologia* 9.1, S. 97–113.
- Pauling, L und C D Coryell (1936). »The Magnetic Properties and Structure of Hemoglobin, Oxyhemoglobin and Carbonmonoxyhemoglobin.« In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 22.4, S. 210–216.
- Paulus, F M, J Bedenbender u. a. (2014). »Association of rs1006737 in CACNA1C with alterations in prefrontal activation and fronto-hippocampal connectivity«. In: *Human Brain Mapping* 35.4, S. 1190–1200.
- Paulus, F M, S Krach u. a. (2013). »Partial support for ZNF804A genotype-dependent alterations in prefrontal connectivity.« In: *Human brain mapping* 34.2, S. 304–13.
- Pini, S u. a. (2005). »Prevalence and burden of bipolar disorders in European countries«. In: *European Neuropsychopharmacology* 15.4, S. 425–434.
- Raichle, M E und M A Mintun (2006). »Brain work and brain imaging.« In: *Annual review of neuroscience* 29, S. 449–76.
- Ripke, S u. a. (2011). *Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci.*
- Seedat, S u. a. (2009). »Cross-national associations between gender and mental disorders in the World Health Organization World Mental Health Surveys.« In: *Archives of general psychiatry* 66.7, S. 785–95.
- Shields, J und I I Gottesman (1977). »Obstetric complications and twin studies of schizophrenia: clarifications and affirmations.« In: *Schizophrenia bulletin* 3.3, S. 351–4.
- Shizukuishi, T, O Abe und S Aoki (2013). »Diffusion tensor imaging analysis for psychiatric disorders.« In: *Magnetic resonance in medical sciences : MRMS :*

- an official journal of Japan Society of Magnetic Resonance in Medicine* 12.3, S. 153–9.
- Smoller, J W und C T Finn (2003). »Family, twin, and adoption studies of bipolar disorder.« In: *American journal of medical genetics. Part C, Seminars in medical genetics* 123C.1, S. 48–58.
- Stephan, K E und A Roebroeck (2012). »A short history of causal modeling of fMRI data«. In: *NeuroImage* 62.2, S. 856–863.
- Strauss, J S, W T Carpenter und J J Bartko (1974). »The diagnosis and understanding of schizophrenia. Part III. Speculations on the processes that underlie schizophrenic symptoms and signs.« In: *Schizophrenia bulletin* 11, S. 61–69.
- Sugaya, L u. a. (2012). »Child physical abuse and adult mental health: a national study.« In: *Journal of traumatic stress* 25.4, S. 384–92.
- Sullivan, P F, K S Kendler und M C Neale (2003). »Schizophrenia as a Complex Trait«. In: *Archives of general psychiatry* 60, S. 1187–1192.
- Thaker, G K (2008). »Neurophysiological endophenotypes across bipolar and schizophrenia psychosis«. In: *Schizophrenia Bulletin* 34.4, S. 760–773.
- Thimm, M u. a. (2010). »The effects of a DTNBP1 gene variant on attention networks: an fMRI study.« In: *Behavioral and brain functions : BBF* 6, S. 54.
- Thomas, P u. a. (2007). »Correlates of hallucinations in schizophrenia: A cross-cultural evaluation«. In: *Schizophrenia Research* 92.1-3, S. 41–49.
- Thulborn, K R u. a. (1982). »Oxygenation dependence of the transverse relaxation time of water protons in whole blood at high field.« In: *Biochimica et biophysica acta* 714.2, S. 265–270.
- Torrey, E F (2002). »Studies of individuals with schizophrenia never treated with antipsychotic medications: a review.« In: *Schizophrenia research* 58.2-3, S. 101–15.
- Tost, H, E Bilek und A Meyer-Lindenberg (2012). »Brain connectivity in psychiatric imaging genetics.« In: *NeuroImage* 62.4, S. 2250–60.
- Van Dijk, K R A u. a. (2010). »Intrinsic functional connectivity as a tool for human connectomics: theory, properties, and optimization.« In: *Journal of neurophysiology* 103.1, S. 297–321.

- Ven, V G van de u. a. (2004). »Functional connectivity as revealed by spatial independent component analysis of fMRI measurements during rest.« In: *Human brain mapping* 22.3, S. 165–78.
- Visscher, P M (2008). »Sizing up human height variation.« In: *Nature genetics* 40.5, S. 489–490.
- Wang, W Y S u. a. (2005). »Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns.« In: *Nature reviews. Genetics* 6.2, S. 109–18.
- Ward, C J u. a. (1994). »The polycystic kidney disease 1 gene encodes a 14 kb transcript and lies within a duplicated region on chromosome 16«. In: *Cell* 77.6, S. 881–894.
- Wilk, C M u. a. (2005). »No, it is not possible to be schizophrenic yet neuropsychologically normal.« In: *Neuropsychology* 19.6, S. 778–86.

Akademische Lehrer

Meine akademischen Lehrer in Marburg waren die Damen und Herren: Adamkiewicz, Bartsch, Basler, Baum, Becker, Becker, Behr, Bein, Berger, Bien, Cubayko, Daut, Dettmeyer, Eilers, Engenhardt-Cabillic, Feuser, Fuchs-Winkelmann, Gress, Grzeschik, Hertl, Hofmann, Hoyer, Kircher, Klose, Kolb-Niemann, Koolman, Lill, Lohoff, Maier, Maisch, Moll, Moosdorf, Mueller, Mutters, Neubauer, Neumüller, Nimsky, Oertel, Opitz, Pagenstecher, Plant, Renz, Richter, Ruchholtz, Sahmland, Schäfer, Schmidt, Sekundo, Vogelmeier, Wagner, Weihe, Werner, Wulf, Zovko